CNRS PARIS
n° A.O 6454

UNIVERSITÉ AIX-MARSEILLE

THÈSE

présentée

A L'UER DES SCIENCES DE LA MER

ET DE L' ENVIRONNEMENT CENTRE

UNIVERSITAIRE DE

MARSEILLE - LUMINY

par

HENRY AUGIER

pour obtenir le grade de

DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

CONTRIBUTION A L'ETUDE BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DES SUBSTANCES DE CROISSANCE CHEZ LES ALGUES

Soutenue le 18 Novembre 1972 devant la Commission d'Examen :

M. J.M.	PÉRÈS	Président
M. R.J.	GAUTHERET	Rapporteur
M. H.	HARADA	Examinateurs
M. R.	MOLINIER	Examinateurs

CNRS PARIS
n° A.O 6454

UNIVERSITÉ AIX-MARSEILLE

THÈSE

présentée

A L'UER DES SCIENCES DE LA MER

ET DE L'ENVIRONNEMENT CENTRE

UNIVERSITAIRE DE

MARSEILLE-LUMINY

par

HENRY AUGIER

pour obtenir le grade de

DOCTEUR ES-SCIENCES NATURELLES

CONTRIBUTION A L'ETUDE BIOCHIMIQUE ET PHYSIOLOGIQUE DES SUBSTANCES DE CROISSANCE CHEZ LES ALGUES

Soutenue le 18 Novembre 1972 devant la Commission d'Examen :

M. J.M.	PÉRÈS	Président
M. R.J.	GAUTHERET	Rapporteur
M. H.	HARADA	Examinateurs
M. R.	MOLINIER	Examinateurs

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

SOMMAIRE

Pages

SOMMAIRE..... 1

REMERCIEMENTS..... 4

RESUME..... 8

INTRODUCTION..... 10

ABREVIATIONS..... 14

PREMIERE PARTIE : HISTORIQUE

Chapitre 1 : Manifestations biologiques de nature hormonale..... 18

Chapitre 2 : Tentatives de caractérisation des phycohormones..... 24

Chapitre 3 : Action des phytohormones sur les algues..... 38

DEUXIEME PARTIE : METHODES ET TECHNIQUES

Chapitre 1 : Extraction, purification et identification des phytohormones de croissance..... 52

I. - Considérations générales..... 52

II. - Préparations des échantillons..... 53

1°) Récolte et contrôles..... 53

2°) Lyophilisation..... 54

III. - Recherche des auxines..... 55

1°) Prise aux solvants..... 55

2°) Purification de l'extrait..... 57

a) Filtration moléculaire sur gel de dextranes.... 57

b) Chromatographie sur papier et sur couche mince. 62

3°) Identification et dosage..... 64

a) Rf et volume d'élution..... 64

b) Tests biochimiques..... 64

c) Tests biologiques..... 70

d) Spectre d'absorption..... 73

IV. - Recherche des gibbérellines..... 73

1°) Prise aux solvants sélectifs..... 73

2°) Filtration moléculaire et chromatographie..... 74

3°) Tests biochimiques..... 79

4°) Tests biologiques..... 82

V. - Recherche des cytokinines..... 87

1°) Extraction préliminaire..... 87

Pages

2°) Détection..... 87

a) Chromatographie sur couche mince et fluorescence..... 87

b) Test "moelle de tabac"..... 89

c) Test "feuille d'avoine"..... 91

3°) Purification de l'extrait..... 91

4°) Identification..... 92

VI. - Analyse de l'eau de mer..... 94

Chapitre 2 : Dosage de l'azote total et des acides aminés..... 96

Chapitre 3 : Action des hormones sur les algues..... 98

I. - Expériences in situ..... 98

II. - Cultures en laboratoire..... 99

TROISIEME PARTIE : RESULTATS

Chapitre 1 : Les phytohormones endogènes des algues..... 104

I. - Auxines

1°) Chlorophycées..... 104

2°) Phéophycées..... 111

3°) Rhodophycées..... 127

II. - Gibbérellines

1°) Chlorophycées..... 138

2°) Phéophycées..... 145

3°) Rhodophycées..... 147

III. - Cytokinines

1°) Mise en évidence..... 153

2°) Essais d'identification des cytokinines détectées..... 161

Chapitre 2 : Les substances stimulantes et inhibitrices détectées dans l'eau de mer..... 164

Chapitre 3 : Action des régulateurs de croissance sur les algues..... 172

I. - Croissance..... 172

1°) Chlorophycées..... 172

2°) Phéophycées..... 182

3°) Rhodophycées..... 184

II. - Vie ralentie..... 188

III. - Morphogenèse et multiplication végétative..... 189

1°) Caulerpa prolifera..... 189

Pages

2°) Petroglossum nicaeense..... 196

3°) Dilophus fasciola variété repens..... 204

IV. - Teneur en azote total, en protéines et en acides aminés..... 204

QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION. BILAN DES CONNAISSANCES ACTUELLES

Chapitre 1 : Les hormones des algues..... 212

I. - Auxines et précurseurs auxiniques..... 212

1°) Sur la présence de l'AIA chez les algues..... 212

2°) Cas du tryptophane..... 213

3°) Auxines diverses..... 217

II. - Substances de type gibbérellique..... 218

III. - Substances de type cytokinine..... 222

IV. - Autres substances de nature hormonale..... 223

V. - Distribution et répartition des hormones..... 226

VI. - Hormones liées..... 229

VII. - Biogenèse des hormones..... 230

Chapitre 2 : Rôle des phytohormones dans la vie des algues..... 234

I. - Action sur le développement et la croissance..... 234

1°) Croissance..... 234

2°) Tropismes et périodismes..... 246

3°) Vie ralentie..... 248

4°) Morphogenèse..... 248

5°) Dominance apicale..... 252

II. - Rôle dans la multiplication végétative et la reproduction sexuée..... 253

III. - Influence sur quelques métabolismes..... 254

1°) Propriétés cellulaires..... 255

2°) Echanges respiratoires..... 255

3°) Photosynthèse..... 256

4°) Composition chimique..... 256

IV. - Rôle écologique..... 258

CONCLUSION..... 262

BIBLIOGRAPHIE..... 270

INDEX DES ESPECES CITEES..... 310

REMERCIEMENTS

Fruit de longues années de recherche, ce travail a bénéficié de l'aide, des conseils et des encouragements de mes maîtres, de mes collègues et amis, de mes parents. Je désire que chacun trouve ici l'expression de ma plus sincère gratitude.

J'ai à coeur, avant tout, de saluer la mémoire du Professeur NITSCH décédé en juillet 1971. C'est à l'occasion d'un stage scientifique au Phytotron de Gif-sur-Yvette que j'eus la bonne fortune de le rencontrer. En m'initiant aux techniques modernes d'analyse des phytohormones il m'a permis de monter, à Marseille, la chaîne d'analyse nécessaire à mes expériences. Je lui suis redevable également de m'avoir procuré des documents bibliographiques, des échantillons pour la réalisation des tests biologiques, des indications pour acquérir des produits chimiques rares. C'est pour moi un très grand honneur d'avoir approché cet homme de science et de coeur dont l'amabilité, l'honnêteté et la compétence seront à jamais pour moi des exemples. Je lui réserverai toujours un souvenir profondément reconnaissant.

Monsieur le Professeur GAUTHERET, Membre de l'Institut, Directeur du Laboratoire de Biologie Cellulaire à Paris, a bien voulu accepter de présider le jury de cette thèse m'accordant ainsi un honneur auquel je suis particulièrement sensible. Je le remercie d'avoir bien voulu examiner l'ébauche de ce travail et de m'avoir fait part d'avis qui m'ont été très précieux pour sa présentation définitive.

Monsieur le Professeur PERES, Directeur de la Station Marine d'Endoume, Président de l'U.E.R. des Sciences de la Mer et de l'Environnement, a bien voulu me faire l'honneur de présider également le jury de cette thèse. Il m'a fait bénéficier de ses conseils m'accordant toutes facilités de travail à la Station Marine d'Endoume. Qu'il trouve ici l'expression de ma très profonde gratitude.

Ma reconnaissance va également à Monsieur HARADA, Maître de recherche au C.N.R.S., Directeur du Laboratoire de Physiologie pluricellulaire, qui m'a été d'un grand secours dans l'élaboration définitive de mon travail, plus particulièrement pour l'étude des cytokinines des algues. Au cours de mes différents stages à Gif-sur-Yvette je n'ai jamais fait appel en vain à sa haute compétence et j'ai toujours bénéficié de ses conseils techniques très précieux. J'éprouve à son égard une dette supplémentaire de reconnaissance car il a bien

voulu accepter de remplacer le Professeur NITSCH auquel il a succédé à la tête du Laboratoire de Physiologie pluricellulaire.

Je dois beaucoup aussi à Monsieur le Professeur Roger MOLINIER qui m'a accueilli dans son Laboratoire et a encouragé, en maintes occasions, mes travaux de recherche. Il a mis à ma disposition, dans la mesure de ses possibilités limitées par des restrictions budgétaires sévères qui m'ont contraint à renoncer à un certain nombre d'appareillages, les moyens techniques nécessaires pour mener à bien cette thèse. Il m'a communiqué sa passion pour la mer et la nature et j'ai pu approfondir, à son contact, mes connaissances océanographiques et algologiques, complément nécessaire à ma formation de physiologiste. Je ne peux lui dire, ici, en peu de mots, toute ma reconnaissance mais qu'il soit assuré que je m'efforcerai de toujours transmettre à d'autres cet amour du travail et de la nature qu'il a su développer en moi. Je ne saurais oublier également Monsieur le Professeur René MOLINIER qui m'a accueilli dans son Laboratoire au début de ma carrière et qui a toujours suivi mon travail avec beaucoup d'intérêt.

Mes remerciements vont également à Monsieur DINCKY, Technicien de grande compétence à l'Institut de Pétroléochimie de Saint Jérôme, qui m'a apporté son aide précieuse dans la réalisation technique des lyophiliseurs et de l'unité d'éclairement du microphycotron ; à Monsieur DORGNON qui a mis à ma disposition les moyens considérables de la Société SPIT pour la mise au point d'un pistolet de scellement sous-marin ; à Madame NITSCH qui m'a fait bénéficier de son expérience technique et de ses conseils amicaux au cours de mes stages au Phytotron ; à Madame CHERUEL, technicienne au Laboratoire de Physiologie pluricellulaire de Gif ainsi qu'aux autres membres de ce laboratoire ; à Monsieur le Professeur BOURDILLON et Messieurs FAGGIO et ROSSI du Laboratoire d'Hydrobiologie marine qui ont également facilité ma tâche ; à Monsieur le Professeur PHINNEY qui m'a procuré des semences de maïs nain ; au Docteur ELSON de l'Imperial Chemical Industries Limited qui m'a procuré des échantillons de gibbérellines introuvables dans le commerce ; à Monsieur Charles François BOUDOURESQUE, compagnon de multiples plongées avec qui s'est amorcée une fructueuse collaboration dans les études écobiocénotiques ; à Monsieur PELLEGRINI qui a entrepris avec moi une étude sur le rôle des phytohormones dans le métabolisme des acides aminés ; enfin à tous mes collègues qui ont encouragé mon travail : Mesdames BELLAN, CROSNIER, FAIDHERBE, HUVE, LE CAMPION, MATTEI, PELLEGRINI ; Mademoiselle VINCENTELLI ; Messieurs ALLAVENA, AMAUDRIC, CROSNIER, CROUZET, HARMELIN, HUVE, KERAMBRUN, LAVAGNE, MARTIN, MOUTTE, PESSAH, SANTIMONE, SEILLER, TAILLEZ, VACELET, etc...

J'ai à coeur aussi de ne pas oublier les services

rendus jour après jour et avec un grand dévouement par mes camarades techniciens : Madame DESCAMPS, Messieurs LAISNEY et CHAREYRE, compagnons fidèles et sincères de mon laboratoire à qui j'exprime mes remerciements bien amicaux.

Je remercie également Mademoiselle KOEST, Conservateur, ainsi que le personnel de la bibliothèque de Luminy placé sous ses ordres qui ont facilité mon travail de documentation avec un très grand dévouement.

C'est à Madame LAISNEY qu'est revenue la tâche difficile de la dactylographie et à Madame TESSEIRE celle non moins délicate de l'impression de ce travail, ce dont elles se sont acquitées avec une grande conscience professionnelle.

Je dédie cette thèse à ma femme à qui j'exprime ma profonde reconnaissance pour son aide efficace dans le domaine bibliographique et pour sa participation dans l'élaboration définitive des schémas. Elle a été également pour moi un soutien moral particulièrement réconfortant dans les moments difficiles qui furent nombreux. Je ne saurais oublier aussi tous les affectueux encouragements prodigués par mon parrain Henri AUGIER ainsi que par mes beaux-parents Monsieur et Madame MARX.

Je dédie cette thèse, avec beaucoup d'émotion, à la mémoire de mon père dont le décès prématuré en 1956 a plongé le lycéen que j'étais dans un immense désaroi moral, la misère et le désespoir qui suivirent me forgèrent alors une volonté inflexible pour parvenir dans ma carrière là où il désirait tant que j'aboutisse.

Je dédie enfin cette thèse, avec toute mon affection, à ma mère, compagne d'infortune animée du désir permanent de me voir continuer les études malgré les vicissitudes de notre condition matérielle, partageant mon engouement et ma passion pour mon travail et qui n'a jamais ménagé sa peine pour moi avec tout l'amour, la tendresse et la force dont une mère est capable.

RESUME

Ce mémoire, consacré à l'étude des hormones des algues, débute par un rappel historique des résultats obtenus par d'autres chercheurs dans le cadre de tentatives d'extraction et d'identification des phycohormones ou d'expériences relatives à l'action des hormones végétales sur les grandes fonctions physiologiques de ces tallophytes. Il établit un bilan complet des expériences dans chaque branche de la recherche et intéresse à la fois les algues unicellulaires et pluricellulaires, les espèces d'eau douce et marines.

Les méthodes utilisées comprennent essentiellement la lyophilisation, la filtration moléculaire sur gel de dextranes, la chromatographie sur papier, sur couche mince et sur colonne, les tests d'identification physiques, chimiques et biologiques. Le détail des techniques varie pour chaque type de substance recherchée.

Les analyses ont permis de révéler l'existence d'hormones dans le thalle de nombreuses algues appartenant à des unités taxinomiques, écologiques, anatomiques et physiologiques variés et à des périodes différentes de leur développement. Ces substances, souvent identiques ou semblables aux phytohormones des végétaux supérieurs, appartiennent, pour la majorité d'entre elles, à trois groupes chimiques différents : auxines, gibbérellines et cytokinines. L'acide indolyl-3-acétique a été identifié chez plusieurs espèces de même que certains de ses précurseurs directs, tel le tryptophane et l'indolyl-acétonitrile. La caractérisation de ces substances a permis d'esquisser un schéma général de la biogenèse de l'AIA chez les algues qui présente de nombreux points de similitude avec celui des végétaux supérieurs. Il y a de fortes présomptions également pour que certaines gibbérellines isolées des algues soient assimilables à GA_1, GA_3, GA_4, GA_7 et GA_9. Les cytokinines révélées par le test "moelle de tabac" sont différentes de la zéatine et de la 6-benzyladénine mais présentent probablement un noyau de nature purique. D'autres composés ont été décelés par leur activité physiologique mais leur nature chimique demeure inconnue.

Des expériences de traitement <u>in situ</u>, rendues possibles par l'utilisation du scaphandre autonome, et de cultures en laboratoire à l'aide d'une petite unité phytotronique, ont montré que les phytohormones interviennent dans la régulation des grandes fonctions physiologiques des algues au cours des différentes phases de leur développement. Elles participent, en effet, à la régulation de la croissance et du développement en intervenant non seulement sur les

mécanismes de l'élongation et de la multiplication cellulaires mais également sur ceux de la morphogenèse et de l'organogenèse. Elles intéressent également les grandes fonctions métaboliques comme en témoignent les différences enregistrées pour les propriétés cellulaires, les échanges gazeux et la composition chimique des algues soumises aux tests. Leur influence s'exerce également, dans certains cas, sur les processus de la perpétuation des espèces qu'il s'agisse de reproduction sexuée ou de multiplication végétative.

Les expériences ont montré, néanmoins, que les modalités et le déterminisme du développement des algues résultent d'interactions et d'équilibres extrêmement précis associant ou opposant des influences et des substances parmi lesquelles les hormones ne doivent être considérées que comme des maillons de la longue chaîne métabolique.

INTRODUCTION

Les biologistes de la fin du 19ème siècle, qui se livraient à des expériences sur les tropismes des plantes, auraient sans doute été surpris d'apprendre que leurs travaux serviraient de base, cinquante ans plus tard, à la surprenante découverte des hormones végétales. L' "auxinologie", qui s'est créée par la suite grâce aux expériences remarquables de WENT, a pris, depuis une vingtaine d'années, une ampleur considérable. Cependant si de nombreux travaux ont été consacrés à l'étude des hormones des phanérogames, un nombre beaucoup plus réduit de publications concerne les cryptogames et plus particulièrement les algues.

Ma double vocation de physiologiste et d'algologue m'a fait entrevoir très tôt la possibilité de contribuer à combler partiellement ce retard sur un sujet qui offre, par ailleurs, un intérêt considérable non seulement du point de vue théorique mais également du point de vue de ses applications pratiques. Les algues présentent une organisation moins complexe que les végétaux supérieurs et ce matériel d'étude peut aider à résoudre, en les simplifiant, certains problèmes fondamentaux de physiologie végétale. Dans le domaine des applications il est certain que les hormones végétales, en tant que substances de croissance et de morphogenèse, peuvent intervenir de façon efficace dans les problèmes de rendement quel que soit le type de culture considéré. Cet aspect de la recherche, bien qu'en partie futuriste, ne doit pas être négligé à l'heure où l'on parle sérieusement d'intensifier l'exploitation rationnelle des richesses sous marines.

Une partie de cette étude est consacrée aux expériences sur l'isolement et les essais d'identification des phytohormones tandis qu'une autre partie fait état des travaux sur le rôle de ces produits dans la vie des algues qu'il s'agisse de développement, de reproduction, de métabolisme ou de rapports avec le milieu ambiant. Il était nécessaire de voir, en effet, non seulement si des substances de nature hormonale existent chez les algues mais aussi de connaître le rôle de ces produits dans la vie de ces thallophytes. Les auxines, les substances de type gibbérelline et la famille des cytokinines ont été successivement examinées ainsi que d'autres substances chimiquement connues ou inconnues. Nous avons laissé volontairement de côté les problèmes de catabolisme auxinique en ne faisant mention que fort rarement des auxines-oxydases (peroxydases, catalases, phénoloxydases, etc...) et de leurs rapports avec les hormones. Ces questions qui n'ont donné lieu qu'à un nombre extrêmement limité de travaux chez les algues mériteraient de faire l'objet d'un cycle de recherches approfondies. Nous avons négligé également les substances de nature non hormonale mais caractérisées par le fait qu'elles peuvent intervenir dans les phénomènes de croissance : vitamines, bios, antibiotiques, etc... que l'on range souvent dans le groupe général des subs-

tances dites de croissance.

Enfin, un dernier chapitre est consacré aux applications pratiques sur lesquelles peuvent déboucher les résultats acquis.

A B R E V I A T I O N S

Pour alléger le texte, les abréviations suivantes ont été utilisées :

A I A = Acide indolyl - 3 - acétique

A I B = Acide indolyl - 3 - butyrique

A I P = Acide indolyl - 3 - pyruvique

A N A = Acide naphtalène acétique

GA_n = Gibbérellines (GA_1, GA_2, GA_3, etc...)

I A = Indolyl aldéhyde

I A E = Indolyl acétate d'éthyle

I A M = Indolyl acétamide

I A N = Indolyl acétonitrile

K = Kinétine = 6 furfurylaminopurine

ppm = Parties par million

2.4-D = Acide 2.4-dichlorophénoxyacétique

2.4.5-T = Acide 2.4.5-trichlorophénoxyacétique

PREMIERE PARTIE

H I S T O R I Q U E

CHAPITRE 1 : MANIFESTATIONS BIOLOGIQUES DE NATURE HORMONALE

PRINGSHEIM (1912) a été le premier à signaler l'effet bénéfique de l'extrait de terre sur la culture des algues. Après lui de nombreux auteurs ont utilisé ce procédé avec succès ; citons DE VALERA (1940) et BAUDRIMONT (1961) sur les Ulvacées ; DAO (1956) sur Acetabularia, BERLAND (1966) et BONIN (1969) sur les Diatomées marines, RIETH (1969) sur Vaucheria. J'ai utilisé moi-même le milieu dit "d'Erdschreiber" qui m'a donné d'excellents résultats. On reconnaît à l'extrait de terre un certain nombre de propriétés bénéfiques : il aurait le pouvoir de tamponner le milieu et jouerait un rôle dans l'équilibre sels ferreux-sels ferriques et dans le potentiel redox (BERLAND, 1966). Certains auteurs (KYLIN 1942, PRINGSHEIM 1946, BERLAND 1966) supposent aussi que l'extrait de terre contient des substances de croissance de nature auxinique (provenant de la matière organique inerte ou des microorganismes du sol) qui expliqueraient son action favorable sur les algues. Ces premières constatations sur le pouvoir de l'extrait de terre sont à l'origine de l'idée que les substances de croissance pourraient jouer, chez les algues, un rôle semblable à celui qu'elles ont chez les végétaux supérieurs.

On a aussi utilisé des décoctions ou des extraits d'algues pour améliorer les cultures. C'est le cas de SCHREIBER (1935) qui emploie une décoction de Dictyota dichotoma pour favoriser le développement des plantules de cette même espèce en culture au laboratoire. BAUDRIMONT (1961) constate de son côté que les décoctions d'algues provoquent une croissance des Ulvacées plus rapide même que l'extrait de terre. Selon SUNESON (1942 et 1943), la teneur en sels nutritifs et la présence d'éléments traces ne sont pas suffisants pour expliquer le pouvoir des décoctions d'algues qui proviendrait de la présence de substances de nature hormonale.

Les propriétés des extraits d'algues ont été également éprouvées sur les autres végétaux. Les extraits de Chlorophycées unicellulaires ont un effet bénéfique sur la croissance de Staphyloccocus aureus (JORGENSEN et STEEMANN 1961). Les extraits éthanoliques de Chlorella viscosa, Coccomyxa simplex, Docystis naegelii, Scenedesmus flavescens favorisent la croissance et la reproduction du champignon Phytophthora cactarum (LEONIAN 1935). Les extraits de Cyanophycées d'eau douce stimulent la division cellulaire des tissus de topinambour (LEFEVRE

et al. 1963). Les extraits de Furcellaria fastigiata et Fucus vesiculosus activent la croissance et la reproduction de Lemna minor et Phaseolus vulgaris (DAGYS et al. 1964). Les Cyanophycées Stratonostoc linckia, Anaboena variabilis, Cylindrospermum michailovskoënse et Calothrix sp. améliorent la germination et le développement des plantes cultivées et sauvages (GALKINA et al. 1966). Les extraits à l'éther ou à l'eau des algues des rizières (principalement : Phormidium foveolarum, Ph. corium, Ph. autumnale, Fischerella mucicola, Scytonema hofmanni) accélèrent la germination et favorisent la croissance des plantules de riz (GUPTA et SHUKLA 1964, GUPTA et KUSUM-LATA 1964). Une étude chromatographique préliminaire a montré qu'une des substances actives de Phormidium foveolarum est de nature gibbérellique (GUPTA et SHUKLA 1969).

On a montré aussi que les extraits d'autres végétaux pouvaient également influencer la croissance des algues. Certaines substances bactériennes, à composition non encore élucidée, activent la croissance de Cladophora et de Rhizoclonium en cultures stériles (THOMAS 1963). Azotobacter chroococcum et Beijerinckia indica doublent la croissance et la teneur en azote de Calothrix antarctica dans un milieu de culture exempt de glucides (SAUBERT et STRIJOOM 1969). Des extraits de champignons stimulent le développement de Scenedesmus obliquus (SUPRON 1965). Une préparation de pois au soxhlet à 95 % d'éthanol stimule considérablement la croissance de Chlorella viscosa, Coccomyxa simplex, Oocystis noegelii et Scenedesmus flavescens alors que la cendre de pois n'exerce aucun effet (LEONIAN 1935).

Parallèlement à ces travaux, d'autres auteurs ont signalé l'effet bénéfique des filtrats de culture d'algues sur la croissance d'autres algues. LEFEVRE et JACOBS (1949) ont montré que le filtrat de Scenedesmus quadricauda favorise le développement de Phormidium uncinatum et que certaines des substances impliquées sont thermolabiles. LEFEVRE et al. (1963) ont signalé que certaines Cyanophycées d'eau douce secrétaient, en culture, dans un milieu strictement synthétique, des substances favorisant la multiplication cellulaire. GALKINA (1964) mentionne l'effet inhibiteur ou stimulant de milieux ayant servi à la culture de Chlorella pyrenoidosa. BERLAND (1966) rapporte que les filtrats de milieux de culture de Diatomées accélèrent la division cellulaire d'autres Diatomées. DE VALERA (1940) et KYLIN (1942) constatent que les algues se développent mieux dans l'eau de mer prélevée dans les zones à Fucus et Ascophyllum qu'au large ou en profondeur. Tous ces auteurs supposent ainsi que les algues excrètent, dans le milieu, des substances de nature hormonale qui donnent à l'eau de mer ou aux milieux de culture leur pouvoir particulier. BENTLEY (1958) est le seul chercheur à avoir

tenté de vérifier, de manière critique, cette hypothèse, par l'analyse des milieux de culture de Chlorella pyrenoidosa, Oscillatoria sp. et Anaboena cylindrica. L'extraction par les solvants et la chromatographie sur papier lui ont permis d'isoler un complexe hydrosoluble instable non caractérisé ainsi qu'une substance indolique à Rf voisin de celui de l'acide indolyl-3-acétique et active sur le test "coléoptile d'avoine".

L'ensemble de ces observations montre que la croissance et le développement des algues doivent être régis par des substances chimiques de nature hormonale et qu'il y a de grandes chances pour que ces substances soient identiques ou semblables à celles des autres végétaux.

D'autres preuves de nature différente existent également en faveur de cette théorie ; il s'agit essentiellement des observations ou des expériences sur les tropismes et les périodismes, la régénération, la polarité et la dominance apicale, manifestations biologiques qui, chez les végétaux supérieurs, sont plus ou moins liées à des régulations hormonales.

Dès 1906 HABERLANDT signale le géotropisme de Caulerpa prolifera. OGATA en 1960 observe le géotropisme particulier de Conchocelis dont les plantules se placent toujours perpendiculairement à la gravité. KYLIN mentionne en 1942 que les plantules d'Ulva lactuca et d'Enteromorpha linza ont une réaction phototropique positive. Chez Cymopolia barbata et Neomeris annulata le phototropisme est positif pour les gamètes et négatif pour les zygotes (HAMMERLING 1952). Lorsque les spores de Vaucheria (V. sessilis, V. armata et V. geminata) germent, les jeunes germes présentent un phototropisme positif (WEBER 1958) ; les filaments de Vaucheries adultes ont également une réaction phototropique positive intense allant même jusqu'à une courbure maximale de 90°. PUISIEUX-DAO a décrit, en 1957, la réaction phototropique de fragments de Batophora oerstedi pourvus ou non de noyau. En cultivant des fragments de thalle dans de l'eau de mer contenant de l'acide indolyl-3-acétique la courbure est accentuée et elle est inhibée aux fortes concentrations. Ce mode d'action rapide à concentration faible avec inhibition aux fortes concentrations est caractéristique des hormones de croissance. Ces faits démontrent que l'auxine active dans les tropismes des végétaux supérieurs l'est également avec l'algue utilisée et de plus que le phénomène d'élongation cellulaire sous l'influence de l'acide indolyl-3-acétique est relativement indépendant du noyau, action conforme aux idées actuelles sur les phénomènes auxiniques.

IWASAKI (voir PROVASOLI 1961) a trouvé que le thalle de Porphyra tenera se comportait comme une plante de jour court et que la

production et la mise en liberté des spores par le thalle, de même que la phase Conchocelis sont sous la dépendance de la photopériodicité et que des substances de nature hormonale doivent donc nécessairement intervenir dans ces mécanismes.

La régénération est considérée également comme une manifestation histologique pouvant être régulée par des médiateurs chimiques. Or la faculté de régénération est très répandue chez les algues. Nous n'en donnerons que quelques exemples.

HABERLANDT signale, en 1929, le pouvoir de régénération de Bryopsis et Codium. ERNST constate, en 1931, que des morceaux de Caulerpa clavifera peuvent régénérer et même continuer leur gamétogenèse. DANGEARD (1957) a étudié la faculté de régénération chez les Enteromorphes. En coupant certaines espèces, les fragments mis en culture sont capables de régénérations de diverses natures : production de rhizoïdes vers le bas ; de plantule manquante vers le haut, de filaments ou de plantes entières. Ainsi "les fragments d'Enteromorpha se comportent à la manière d'une bouture de saule qui, placée en terre, produit des racines d'un côté, des bourgeons de l'autre". PUISIEUX-DAO (1965) a longuement étudié la régénération de l'algue unicellulaire Acetabularia mediterranea et a montré le rôle important du noyau et de l'apex. KNIGHT et PARKE (1950), PRINTZ (1959), MOSS (1958 et 1964) ont étudié, en détail, la régénération du Fucus vesiculosus. Des lambeaux de thalle peuvent régénérer des branches végétatives ; l'apex isolé ne donne aucune régénération, par contre la région située à 5 mm sous l'apex ainsi que les régions centrales et basales donnent une bonne régénération. Ceci suggère que le méristème apical doit avoir un effet inhibiteur sur la régénération comme cela est connu chez certains végétaux supérieurs. COSSON (1965) et PEREZ (1967) ont également signalé la régénération chez une autre Phéophycée pluricellulaire : Laminaria digitata chez qui la régénération n'est possible que si on coupe la lame à plus de 5 cm sous le sommet. FELICINI et ARRIGONI (1967) ont montré le pouvoir de régénération de la Rhodophycée Pterocladia capillacea, observation qu'ils ont complétée par l'étude de l'action de l'acide indolyl-3-acétique et du chloride 2-chloroéthyltriméthylammonium sur ce phénomène.

La régénération n'est généralement pas anarchique, elle est le plus souvent polarisée (DANGEARD 1957, BURROWS 1959, RIETH 1969). OLSON (1937) a montré le rôle des substances de croissance sur la polarité du Fucus vesiculosus. JACOBS (1951) a observé également, chez Bryopsis, que la formation des rhizoïdes était polarisée, qu'il était possible de renverser cette polarité et que ce phénomène était probablement sous la dépendance des auxines.

On trouve enfin chez certaines algues le phénomène

décrit chez les végétaux supérieurs sous le nom de "dominance" ou "contrôle" apical dans lequel la morphogenèse est sous la dépendance des apex. Cette dépendance résulterait du jeu subtil de différents médiateurs chimiques, de nature hormonale, contenus dans la plante (voir SCOTT et al. 1967). Nous prendrons les Fucacées (Fucus vesiculosus, F. serratus, Ascophyllum nodosum) comme exemple chez les algues (BURROWS 1947 et 1956, KNIGHT 1947, MOSS 1964 et 1965). Si on décapite les frondes d'Ascophyllum, il se produit un développement très important de ramifications latérales nouvelles qui étaient donc inhibées par l'apex principal. Ce phénomène est très connu chez le Fucus dont les thalles endommagés ont tendance à produire des ramifications supplémentaires pouvant atteindre une taille égale à celles des parents et porter, comme eux, des sommets fertiles. Si on cultive d'étroits segments de la partie médiane du thalle de Fucus vesiculosus, des cals de cicatrisation apparaissent sur les deux coupures précédant le développement d'un grand nombre de nouvelles ramifications, chacune ayant un méristème apical fonctionnel. Les segments apicaux isolés et contenant la cellule apicale croissent en culture comme s'ils étaient encore attachés au thalle mais ils ne produisent pas de ramifications. Par contre, dans les mêmes conditions, si on détruit le méristème du segment apical, les ramifications apparaissent des deux côtés de la coupure. Le méristème apical a donc, ici, un rôle primordial dans la morphogenèse. Si l'on cultive les apex intacts avec des anti-auxines, ils produisent des ramifications supplémentaires comme ceux auxquels on a enlevé la cellule apicale. Par ailleurs, des analyses chimiques réalisées sur les segments apicaux démontrent la présence, à ce niveau, de substances stimulatrices ou inhibitrices de la croissance. Des expériences analogues ont été réalisées par LIBBERT et JAHNKE (1965) sur les Characées chez lesquelles les processus de régulation de la dominance apicale sont similaires à ceux intervenant chez le pois (Pisum sativum). Il apparaît donc que les régulateurs de croissance doivent être impliqués dans le déterminisme du contrôle apical chez les algues.

L'ensemble de ces observations et de ces expériences milite donc en faveur de l'idée de l'existence d'hormones de croissance endogènes chez les algues et ce sont ces présomptions qui sont à l'origine des premières tentatives d'isolement des phycohormones.

CHAPITRE 2 : TENTATIVES DE CARACTERISATION DES PHYCOHORMONES (1)

VAN DER WEIJ (1937 a et b) a été le premier chercheur à tenter d'extraire les hormones de croissance des algues. Ses premiers essais inspirés des expériences de WENT sur le coléoptile des céréales, consistaient à couper les sommets du thalle de diverses algues, récoltées dans le golfe de Naples, pour les remplacer par des morceaux d'agar dans lesquels les auxines pouvaient passer par diffusion. Les morceaux d'agar étaient ensuite analysés au moyen du test classique de WENT basé sur la courbure du coléoptile d'avoine. Les nombreuses expériences réalisées suivant cette méthode se soldèrent toutes par un échec. Le caractère négatif de ces tentatives provient d'une part du fait que les auxines ne se concentrent pas assez dans l'agar pour provoquer une courbure visible du coléoptile d'avoine et, d'autre part, de ce que l'agar trempe lui-même dans l'eau de culture et qu'il doit y avoir, à ce niveau, des pertes non négligeables de substances. VAN DER WEIJ tenta ensuite de presser les algues et d'incorporer l'extrait obtenu dans des blocs d'agar. Cette méthode ne donna également aucun résultat probant. Il devenait donc nécessaire de concentrer le suc des algues avant de l'incorporer à l'agar de façon à augmenter la quantité d'auxines par unité de volume. L'extrait au soxhlet avec de l'éther sulfurique permit d'obtenir un extrait d'algue 100 à 300 fois plus concentré. Le test de courbure de l'avoine donna encore des résultats négatifs avec Gracilaria acicularis, Cystoseira barbata, Codium tomentosum, Valonia macrophysa et V. utricularis âgées. Par contre l'extrait issu de jeunes individus de Valonia macrophysa provoqua une courbure importante du coléoptile d'avoine. Cette méthode de concentration permit à VAN DER WEIJ de montrer également que les substances de croissance contenues dans la paroi des jeunes vésicules de Valonia macrophysa étaient 20 fois plus concentrées que celles présentes dans le mucilage central.

YIN (1937) a été le premier à examiner l'action de l'AIA sur les algues et le premier également à tenter d'extraire les auxines d'une algue unicellulaire. La culture de Chlorella vulgaris en présence d'AIA a montré

---

(1) JANKE (1939) a été le premier à recenser les quelques rares travaux consacrés, à l'époque, aux tentatives d'identification des auxines des algues ; après lui seuls CONRAD et SALTMAN (1962), puis BRIAN (1963) ont réalisé un travail similaire, les premiers chez les algues, le second chez les végétaux inférieurs en général. Ces essais historiques m'ont servi, au départ, de jalon bibliographique bien qu'ils soient exclusivement consacrés aux auxines.

que l'auxine favorisait nettement la croissance de l'algue (augmentation du diamètre moyen des cellules, augmentation pondérale des cultures, etc...) et qu'elle avait un effet nuisible à des concentrations élevées (0,01 mg/ml). Ce résultat laissait supposer que la croissance de Chlorella vulgaris était sous la dépendance des auxines et incitait donc l'auteur à analyser l'algue et son milieu naturel par la méthode d'extraction à l'éther sulfurique de VAN DER WEIJ. Malheureusement les extraits incorporés dans l'agar ne donnèrent aucune courbure du coléoptile d'avoine.

La même année, DU BUY et OLSON (1937) démontrèrent la présence de facteurs de croissance dans les gamètes, les sommets fructifiants et le thalle de Fucus vesiculosus. Les gamètes et les tissus subissaient un traitement différent. Les ovules et les anthérozoïdes étaient séparés par centrifugation puis plongés dans de l'eau douce qui les faisait éclater. L'ensemble était extrait trois fois au chloroforme, le chloroforme évaporé et le résidu sec incorporé dans des cubes d'agar pour subir l'épreuve du test de courbure du coléoptile d'avoine. Les tissus étaient dilacérés dans un mortier en présence de sable, de chloroforme et d'eau, l'eau séparée du chloroforme, le chloroforme évaporé et le résidu sec incorporé à l'agar. Cette méthode donna de mauvais résultats. Les auteurs employèrent alors un autre procédé qui permit de réaliser une épuration plus importante de l'extrait. Les tissus étaient broyés à basse température dans de la neige carbonique et le filtrat extrait ensuite au chloroforme par la méthode habituelle. DU BUY et OLSON mirent ainsi en évidence la présence de substances actives sur le coléoptile d'avoine dans les gamètes et le thalle du Fucus vesiculosus.

Par une méthode similaire DARSIE montra, en 1939, au cours d'une étude sur le phototropisme, la croissance et la polarité de la Chlorophycée Bryopsis muscosa, l'existence de substances de nature hormonale actives sur le test de WENT. Le dosage en équivalent d'AIA donnait une concentration de l'ordre de 80 microgrammes/Kg d'algue fraîche.

En 1940, VAN OVERBEEK utilisa une autre méthode d'extraction pour l'algue brune Macrocystis pyrifera qui consistait à laisser macérer les algues dans de l'éther sulfurique pendant trois jours et à incorporer le résidu sec à l'agar pour le soumettre au test de WENT. L'auteur établit ensuite des comparaisons avec la méthode au soxhlet de DU BUY et OLSON et obtint des résultats équivalents. Il calcula alors les concentrations des substances actives en équivalent d'AIA (c'est-à-dire la quantité d'AIA qu'il faudrait appliquer au coléoptile d'avoine pour obtenir la même courbure que celle provoquée par les substances non identifiées) et obtint en moyenne 0,5 microgramme/Kg d'algue fraîche.

L'analyse des diverses parties du thalle de cette algue géante lui permit de mettre en évidence un gradient de concentration du stipe (0,14 microgramme/Kg) à la partie apicale (0,54 microgramme/Kg) en passant par les vésicules (0,16 microgramme/Kg) et les lames latérales (0,16 microgramme/Kg). Il essaya ensuite, pour la première fois, d'obtenir des renseignements sur la nature et les propriétés du produit isolé. On admettait, à cette époque, l'existence de l'AIA et des auxines a et b. La méthode du coefficient de diffusion de WENT dans l'agar donna une valeur plus proche de l'AIA que des auxines a ou b, résultat confirmé par le test de KÖGL. Néanmoins ces procédés ne permettaient pas de déterminer exactement la nature des produits étudiés qui, par ailleurs, étaient loin d'être purs.

La même année (1940 b) VAN OVERBEEK publia un autre mémoire dans lequel il donnait les résultats d'analyses de seize espèces d'algues. On trouvera, page 27, un tableau qui résume ces résultats (tableau 1). Comme on peut le voir, une activité a été trouvée pour toutes les algues analysées à l'aide du test de WENT. Le dosage montrait que les concentrations variaient de 0,05 microgramme/Kg pour Desmarestia aculeata à 0,5 microgramme pour Fucus evanescens. C'était la première fois que des Diatomées et des algues rouges étaient analysées. La méthode employée était la même que précédemment:extraction à l'éther sulfurique et incorporation dans des cubes d'agar.

VAN OVERBEEK signale par ailleurs (1940 a), que l'ébullition de l'extrait de Macrocystis pyrifera, en présence de soude, augmente le taux d'auxine. Cette constatation annonce déjà les travaux réalisés deux ans plus tard par THIMANN et al. (1942). Ces auteurs démontrèrent que le traitement des extraits d'Ulva lactuca avec des enzymes protéolytiques (chymotrypsine et trypsine) augmente la quantité de substances actives dosées. Ces expériences réalisées également sur des plantes supérieures leur permirent de conclure que le végétal a, en réserve, des auxines liées aux protéines ou à une substance leur ressemblant (théorie de la protéine substrat). Ils démontrèrent, en particulier que la libération des auxines est lente chez Ulva lactuca et qu'il est nécessaire de procéder à une extraction prolongée (10 semaines au moins).

En 1948, ROBORTH et THOMAS démontrèrent l'existence de substances de croissance chez Chlorella vulgaris aboutissant ainsi à un résultat différent de celui de YIN (1937) qui n'avait observé aucune courbure du coléoptile d'avoine. Cette première démonstration de l'existence d'auxines chez les algues unicellulaires a été obtenue grâce à l'utilisation de la méthode d'analyse d'OPPENDORTH (1941). Les cellules étaient extraites pendant cinq heures à l'éther dépéroxydé et l'extrait sec, obtenu par évaporation du solvant, était incorporé à

ALGUES		PARTIES ANALYSEES	Poids (en grammes)	Degré de courbure du coléoptile d'avoine (en degrés)	Concentrations des substances en équivalents d'AIA (g/Kg)
PHEOPHYCEES	Agrum sp.	Frondes âgées	65	8,3	0,12
	Alaria valida	Sporophylles	38	-	-
	Costeria costata	Haptères âgées	28	9,4	0,30
		Frondes âgées	75	0,4	-
	Cystophyllum germinatum	Jeunes thalles	30	11,7	0,37
	Desmarestia aculeata	Thalle entier	50	1,0	0,04
	Desmarestia munda	Lames latérales	78	0,4	-
		Thalle entier	52	2,2	0,08
	Egregia menziesii	Jeune thalle	55	6,9	0,20
	Fucus evanescens	Sommets végétatifs	25	14,2	0,54
		Bases thalles végétatifs	50	16,7	0,53
		Lames thalles fertiles	50	17,2	-
		Bases thalles fertiles	50	7,0	0,22
	Hedophyllum sessile	Base et milieu fronde	82	8,5	0,15
	Laminaria sp.	Fronde	23	0,2	-
	Pleurophycus gardneri	Base de la fronde	67	15,2	0,37
RHODOPHYCEES	Iridea heterocarpa	Plante entière	57	4,4	0,12
	Rhodymenia sp.	Frondes avec tétraspores	49	12,0	0,23
		Frondes avec proliférations	41	0,8	0,02
DIATOMEES	Melosira et Biddulphia	Colonies mélangées	4	9,3	2,2

TABLEAU 1 : Résumé des résultats obtenus, en 1940, par VAN OVERBEEK.

des cubes d'agar pour être soumis au test de THIMANN. 20 ml d'extrait cellulaire provoquaient une courbure du coléoptile comprise entre 8,4 et 10,8° (0,05 ppm d'AIA donnant une courbure moyenne de 13°) et le chauffage à 120°C montrait que l'extrait était composé de 74 % de substances acides de nature inconnue. Par contre, des blocs d'agar plongés dans le milieu de culture, pendant une nuit, donnèrent une réaction de courbure négative à ce même test. ROBORTH et THOMAS constatèrent, par ailleurs, que les algues avaient une croissance plus importante à la lumière qu'à l'obscurité et l'analyse par la même méthode montre que la quantité de substances de croissance est supérieure chez les algues cultivées à l'obscurité que chez celles que l'on place en pleine lumière. La croissance, stimulée par la lumière, montre donc qu'il y avait une consommation plus importante d'hormone, d'où l'obtention d'un taux moins élevé dans les cultures éclairées. ROBORTH et THOMAS sont les premiers auteurs qui traitent de consommation et de production démontrant ainsi que les hormones sont utilisées par les algues en croissance.

En 1949 WILLIAM analysait le méristème isolé de la Phéophycée Laminaria agardhii et montrait que l'extrait à l'éther de pétrole et à la lanoline provoquait la courbure du coléoptile d'avoine. Cette expérience venait compléter le résultat obtenu par VAN OVERBEEK (1940 b) sur un extrait total de Laminaria sp. qui avait révélé également une activité positive sur le test de WENT. Enfin WILLIAM signalait, en 1952, en étudiant l'action de l'AIA sur Codium decorticatum, que des extraits à l'éther éthylique de segments apicaux et intercalaires, réalisés selon la méthode de VAN OVERBEEK (1940 a), provoquaient une légère courbure du coléoptile d'avoine révélant la présence de substances de croissance à une concentration particulièrement faible chez cette Chlorophycée. L'auteur constatait, en outre, qu'il n'y avait pas de différence quantitativement bien marquée entre les deux régions du thalle.

Toutes les expériences réalisées jusque là sur les algues avaient été conduites, comme on l'a vu, à partir de méthodes d'extraction rudimentaires par rapport à celles qui sont actuellement utilisées. Elles ne pouvaient donc que difficilement conduire à l'identification des phytohormones. Les techniques d'épuration de l'extrait par les solvants n'étaient pas au point, l'analyse chromatographique n'existait pas ou n'était pas employée et enfin aucun test biochimique, colorimétrique ou spectrophotométrique n'était encore connu. Seul le test de WENT permettait d'affirmer que les algues contiennent des produits actifs sur la courbure du coléoptile d'avoine, mais aucune autre indication ne pouvait être donnée sur la nature chimique ou les propriétés de ces substances de croissance.

Après les travaux de WILLIAM, il faut attendre 1958 pour voir se réaliser de nouvelles tentatives d'identification des auxines. Entre temps, des progrès considérables ont été réalisés en auxinologie par l'application de méthodes modernes d'analyse chimique (Cf. PILET 1961) qui vont être utilisées, également, en algologie.

BENTLEY a été le premier chercheur à se servir de ces techniques sur les algues unicellulaires ; ses expériences ont donné lieu à la publication de deux articles originaux (BENTLEY 1958 et 1960) et de cinq notes s'y rapportant (BENTLEY 1959 a et b, MOWAT "née BENTLEY" 1963 et 1964, BENTLEY-MOWAT 1967 a).

La technique d'extraction utilisée comprend essentiellement la prise aux solvants organiques et la chromatographie sur papier. Les algues sont broyées dans un mélange d'éthanol et d'eau (70-30) ou dans du chloroforme à pH 5. L'extrait est filtré et le résidu repris à l'éther de pétrole et à l'éther sulfurique. L'extrait à l'éther sulfurique est séparé en deux fractions, l'une neutre, l'autre acide, qui sont chromatographiées sur papier à l'aide du solvant isopropanol-ammoniaque (STOWE et THIMANN 1954). De cette façon les substances actives se trouvent plus concentrées que par les anciennes techniques et une grande partie des produits gênant l'identification des auxines est éliminée. Les substances, localisées sur le chromatogramme, sont ensuite analysées et dosées par le test "coléoptile d'avoine en croissance rectiligne" et révélées par la coloration aux réactifs d'EHRLICH et de SALKOWSKY. Le résidu aqueux est également examiné après saponification alcaline. Les expériences de BENTLEY sont réalisées sur la Chlorophycée Chlorella pyrenoidosa, la Chrysophycée Ochromonas malhamensis, la Cyanophycée Oscillatoria sp. ainsi que sur des échantillons de phytoplancton comprenant un mélange d'espèces parmi lesquelles de nombreuses Diatomées (Leptocylindrus danicus, Choetoceros debilis, C. decipiens, C. convolutus, Thalassiosira gravida, Guinardia flaccida, Nitzschia seriata, Coscinodiscus concinus, Thalassiophrix longissima, T. nitzschioïdes, Rhizosolenia hebetata, R. styliformis). Des activateurs de croissance du coléoptile d'avoine sont décelés chez les trois espèces analysées ainsi que dans l'extrait brut de phytoplancton. En 1958 et 1959 BENTLEY montre que l'activité dans les fractions acides est dûe principalement à deux "complexes" de nature hormonale, conventionnellement appelés X et Z, qui montrent une interconvertibilité mutuelle révélant une parenté chimique indiscutable. Les réactifs indoliques donnent des colorations qui ne sont pas en général caractéristiques de produits connus et il n'est pas évident que l'activité biologique soit dûe à l'AIA. En 1963, travaillant sur Laminaria cloustonii, BENTLEY (porté

à MOWAT en bibliographie) met en évidence deux substances actives sur le coléoptile d'avoine dans une région du chromatogramme voisine l'une de l'AIA et l'autre de l'IAN ainsi qu'une faible activité dans les fractions neutres. Les tests de SALKOWSKY et d'EHRLICH ne donnent pas, néanmoins, les teintes caractéristiques. Des résultats similaires sont obtenus avec Ascophyllum nodosum avec en plus des présomptions pour l'acide indolyl-3-glycollique. En 1964, BENTLEY donne la synthèse de ses résultats dans un tableau que nous reproduisons ci-dessous (Tableau 2).

ESPECES	Auxines libres acides		Auxines liées Ether insoluble saponifié	Auxines libres neutres	Auxines liées neutres
	AIA ?	Autres			
Phytoplancton	-	+	+	+	+
Chlorella pyrenoidosa	+	+	+	?	?
Oscillatoria sp.	+	+	+	?	?
Ochromonas malhamensis	-	+	+	+	?
Laminaria cloustonii	+	+	+	+	?
Laminaria digitata	+	+	?	+	?
Ascophyllum nodosum	?	?	+	?	+

TABLEAU 2 : Résumé des résultats obtenus, en 1964, par BENTLEY.

L'auteur distingue les auxines libres des auxines liées, ces dernières étant obtenues par hydrolyse alcaline de l'extrait. L'analyse biochromatographique des fractions acides et neutres montre, dans chaque cas, la présence d'un certain nombre d'activateurs de croissance dans les extraits. Le dosage par le test coléoptile d'avoine donne une concentration qui varie suivant la substance et l'espèce considérées entre 1 et 20 microgrammes par kilogramme d'algue fraîche. Bien que ces concentrations soient souvent trop faibles pour une révélation satisfaisante par les tests biochimiques, BENTLEY pense que la substance localisée au voisinage du Rf de l'AIA peut être assimilée à cet auxine du moins chez Laminaria cloustonii, Laminaria digitata, Chlorella pyrenoidosa et Oscillatoria sp.. L'auteur en arrive ainsi à la conclusion suivante : "puisque des composés indoliques connus ou non sont communs à plusieurs genres, il doit exister un tronc commun de production d'auxines dans les différentes familles d'algues concernées".

En 1887, LIETGEB signale, brièvement, l'existence de cristaux bien individualisés chez les Acétabulaires. En 1962, TANDLER étudie

la localisation des cristaux signalés par LIETGEB et démontre leur nature indolique chez Acetabularia crenulata par l'utilisation conjointe de tests biochimiques et de la spectrophotométrie. Les cristaux, visibles au microscope fluorescent, sont surtout localisés sous la couche chlorophyllienne ; quelques uns ont été également observés dans la paroi cellulaire. Ils sont plus abondants dans la partie postérieure de la "tige" près des rhizoïdes. Ces cristaux ont été découverts également chez d'autres acétabulaires : A. mediterranea, A. calyculus, A. cliftonii, A. wettsteinii et dans divers autres genres de Dasycladacées : Cymopolia barbata, Batophora oerstedi, Dasycladus clavoeformis, Acicularia schenekii. L'analyse chimique porte successivement sur l'étude directe des cristaux et également sur celle des hydrolysats alcalins d'extraits éthanoliques. L'étude au spectrophotomètre donne un spectre d'absorption, dans l'ultra-violet, présentant un maximum d'absorption à 280 nm et un minimum à 255 nm, caractéristique des composés indoliques sans double liaison dans la chaîne latérale (KAPER 1958) ce qui exclut d'emblée l'indolylaldéhyde, l'acide indolyl-3-acrylique et l'acide indolyl-3-pyruvique (STOWE 1955). Le test d'EHRLICH (au nitrite), à réaction positive, signale une chaîne latérale en position 3 tandis que les réactions à la vanilline et au xanthydrol indiquent un carbone non substitué à la position 2 du cycle pyrrol (FEIGL 1954). Les réactifs de SALKOWSKY et d'EHRLICH ne donnent pas la teinte caractéristique du tryptophane et le réactif toluidine qui révèle les acides nucléiques aboutit à un résultat négatif. Finalement, l'identification chimique complète de ces substances cristallisées n'a pas été réalisée mais leur nature indolique a été parfaitement démontrée. Du point de vue physiologique, comme le fait remarquer TANDLER, la présence naturelle de ces substances indoliques cristallisées chez ces algues renforce l'importance de la recherche des auxines "liées" chez les végétaux. Ces substances cristallisées semblent d'ailleurs avoir une importance morphogenétique importante puisque TANDLER signale (1962 b) que lorsqu'elles se trouvent dans la partie antérieure de la "tige", l'algue ne forme pas de "chapeau".

En 1965, MOSS, travaillant sur le problème de la dominance apicale chez Fucus vesiculosus, essaie d'extraire les régulateurs de croissance de cette Phéophycée. Deux cents segments apicaux sont extraits au méthanol à 80 % par la méthode de THURMAN (1960). Après évaporation du méthanol, le résidu aqueux est ajusté à pH 3 par l'acide sulfurique et extrait avec huit fois son volume d'acétate d'éthyle. MOSS obtient, de la sorte, une fraction aqueuse ajustée à pH 5 par l'hydroxyde de baryum. Les chromatogrammes réalisés avec ces deux extraits sont ensuite analysés avec le test coléoptile d'avoine et le réactif d'EHRLICH. La fraction acétate contient un stimulateur de croissance dont le

Rf est identique à celui de l'AIA mais pour lequel le réactif d'EHRLICH ne donne pas la teinte caractéristique. La fraction aqueuse stimule également la croissance du coléoptile d'avoine, mais plus faiblement, et cette activité serait dûe à la présence de tryptophane si l'on s'en réfère à la teinte obtenue avec le réactif d'EHRLICH. D'autres zones de stimulation ou d'inhibition de croissance existent à d'autres Rf dans chacune des deux fractions qui ne donnent cependant aucune coloration avec le test biochimique utilisé.

En 1968, CONRAD et CONRAD analysent des extraits éthanoliques des réceptacles sexuels mâles et femelles de Fucus vesiculosus et aboutissent à des conclusions similaires à celles de MOSS. Les extraits bruts, chromatographiés sur papier, sont soumis aux tests biologiques "Agrostemme" et "coléoptile d'avoine". La substance active révélée par les tests biologiques se comporte comme l'AIA mais en l'absence de tests biochimiques spécifiques, les auteurs ne peuvent l'assimiler à l'auxine. Le dosage, calculé en équivalent d'AIA, montre que le réceptacle mâle contient dix fois plus de substance active (50 microgrammes/kilogramme d'algue fraîche) que le réceptacle femelle (5 microgrammes). Par contre, aucune différence liée au sexe n'est notée dans l'analyse des extrémités de thalles végétatifs (1,6 microgramme/kilogramme d'algue fraîche).

Les expériences de BENTLEY, TANDLER, MOSS et CONRAD établissent ainsi de façon indubitable l'existence, chez les algues, de substances à noyau indolique voisines et peut-être assimilables aux auxines indoliques des végétaux supérieurs. Néanmoins c'est à JAHNKE et LIBBERT (1964) que revient le mérite d'avoir mis en évidence, pour la première fois, l'AIA chez les algues. Les analyses ont porté sur Chara foetida et Chara hispida, Characées rangées par FELDMANN (1963) parmi les Chlorophycophytes avec les Chlorophycées et les Zygophycées mais dont on fait parfois un embranchement séparé en raison du degré de différenciation supérieur de ces végétaux d'eau douce. La fraction acide des extraits à l'éther sulfurique de ces deux espèces contient un produit stimulant la croissance du coléoptile d'avoine. Après chromatographie sur papier dans deux solvants différents, ce produit a le même Rf que l'AIA et les réactifs biochimiques de SALKOWSKY et d'EHRLICH donnent la teinte caractéristique de l'auxine. L'AIA est absent en hiver, l'extrait contenant, à cette saison, dans la fraction acide, une autre substance indolique acide à Rf différent de celui de l'AIA et biologiquement inactive, dans la fraction non acide, un inhibiteur de croissance en concentration élevée.

Enfin, en 1965, SCHIEWER, en mer Baltique et AUGIER, en Méditerranée, mettent en évidence la présence de l'AIA chez les algues marines

par des méthodes d'analyse qui diffèrent dans le détail.

SCHIEWER (1965 et 1967) utilise -selon la méthode de LARSEN- soit l'éther, soit l'éthanol comme solvant d'extraction sur des algues congelées et réduites en petits morceaux. L'extrait est ensuite chromatographié soit sur papier, soit sur couche mince de Kieselguhr dans différents systèmes de solvants. Les chromatogrammes sont analysés par les tests biologiques "coléoptile de blé" et "d'avoine" ainsi que par les réactifs biochimiques de SALKOWSKY, EHRLICH, LINSKENS et PROCHAZKA.

En utilisant ces méthodes, SCHIEWER a trouvé de l'AIA chez les Chlorophycées Enteromorpha prolifera, E. compressa et Cladophora sericea, chez la Phéophycée Pylaiella litoralis et chez les Rhodophycées Furcellaria fastigiata et Nemalion multifidum et AUGIER de l'AIA et son précurseur, le tryptophane, chez les Rhodophycées Botryocladia botryoides, Rissoella verruculosa et Laurencia obtusa.

La mise en évidence de l' AIA chez les représentants des quatre grands groupes d'algues (Rhodophycées, Phéophycées, Chlorophycées et Charophycées) montre que l'auxine qui préside à la croissance des végétaux supérieurs est également une hormone endogène chez les algues.

Les résultats obtenus en 1965 par ces deux auteurs ont été confirmés et complétés par d'autres études (SCHIEWER et LIBBERT 1965, SCHIEWER et al. 1967 b et c ; AUGIER 1970 et 1971 a, b et c) ainsi que par les travaux d'AHMAD et WINTER en 1969. Ces recherches ayant trait principalement à la biogenèse de l'AIA seront analysées ultérieurement dans ce travail.

Je signalerai, pour terminer, les travaux tout récents de TAUTS et al. (1971 a et b) qui mentionnent l'existence d'AIA endogène chez une chlorelle thermophile de Russie.

. . .

La première publication qui mentionne l'existence de substances endogènes semblables aux gibbérellines chez les algues revient à RADLEY (1961). Les extraits éthanoliques de la Phéophycée Fucus vesiculosus, élués sur une colonne de CHARCOAL-CELITE à l'aide d'un mélange acétone-eau à pourcentage variable, donnent un résultat positif avec le test biologique "pois nain, variété Météor". La fraction éluée avec 50 % d'acétone révèle, après chromatographie sur papier, une activité située dans une région voisine du Rf des gibbérellines GA1, GA3 et GA6 de référence. La fraction éluée avec 90 % d'acétone contient, par contre, un inhibiteur de croissance dont le Rf èst voisin de celui de l'inhi-

biteur β des plantes supérieures (LUCKWILL 1952, KEFFORD 1955).

L'année suivante, KATO et al. (1962) démontrent la présence de substances de type gibbérellique dans les baies de Juniperus chinensis (Gymnosperme) et dans les frondes de la fougère Alsophyla cooperi mais aboutissent à un échec avec les algues Chlamydomonas reinhardi (Chlorophycée), Macrocystis pyrifera (Phéophycée) et Gonyaulax polyedra (Pyrrophycée). Les extractions avaient été réalisées avec les solvants eau, acétone et acétate d'éthyle et les chromatogrammes sur papier analysés par le test biologique "maïs nain" de PHINNEY (1961). Les auteurs expliquent leur échec soit par l'absence de gibbérellines chez les espèces analysées soit par l'insuffisance des techniques d'identification employées.

Les expériences de MOWAT en 1963 (a et b), reprises ultérieurement dans d'autres publications (MOWAT 1964, BENTLEY-MOWAT 1967) devaient confirmer les résultats obtenus par RADLEY en 1961. La technique d'extraction utilisée comprend essentiellement l'extraction aux solvants (acétone-eau, puis acétate d'éthyle), la chromatographie sur papier (bidimensionnelle, puis unidimensionnelle) et enfin les tests biologiques "plantule de pois nain" déjà utilisés par RADLEY et "feuille de plantule d'avoine". La chromatographie sur papier, bidimensionnelle, dans l'eau, permet d'éliminer non seulement une partie des pigments et des lipides, mais également les inhibiteurs déjà signalés par RADLEY et qui peuvent être à l'origine de l'échec de KATO et al. . Moins mobiles que les gibbérellines, ces produits restent vers le bas du chromatogramme. Cette méthode a permis à MOWAT de démontrer l'existence de substances semblables aux gibbérellines chez la Chlorophycée unicellulaire Tetraselmis sp. (= Platymonas), la Phéophycée Fucus spiralis ainsi que dans un échantillon de plancton contenant, en mélange, les mêmes espèces que celles citées à propos de l'étude des composés indoliques (Cf. page 29). Le dosage en équivalent de GA3 donne des valeurs qui varient de 0,1 à 10 microgrammes par kilogramme d'algue fraîche. Fucus spiralis présente trois "pics" d'activité, le "sommet" principal ayant un Rf voisin de GA1 et GA3, Tetraselmis sp. ne donne qu'un seul pic d'activité à Rf voisin de GA4 et GA7.

Les travaux de RADLEY et MOWAT établissent donc l'existence de substances de type gibbérellique chez les Phéophycées et les Chlorophycées ; MURAKAMI (1965 et 1966) en démontre également l'existence chez la Rhodophycée Porphyra tenera et la Charophycée Chara coronata à l'aide d'une méthode différente. L'extraction préliminaire à l'acétone aqueux (70 %) conduit, après évaporation de l'acétone, à une extraction préliminaire à l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse acidifiée est traitée successivement par le chloroforme, l'acétate d'éthyle et le n Butanol. Chaque fraction est ensuite chromatographiée sur papier

avant analyse par le test "réduction des sucres de l'endosperme de riz". Une activité semblable à celles des gibbérellines est décelée dans la fraction n Butanol pour Porphyra et acétate d'éthyle pour Chara.

Par une méthode semblable JENNINGS et al. (1967) démontrent l'existence de gibbérellines chez la Rhodophycée Hypnea musciformis et, l'année suivante, JENNINGS (1968) chez la Chlorophycée Enteromorpha prolifera et la Phéophycée Ecklonia radiata. Les activités sont localisées au Rf de GA3 chez les deux espèces et à des Rf voisins de GA1 et GA9 chez Enteromorpha et GA4 et GA7 chez Ecklonia. En ce qui concerne le pic situé au Rf de GA3, le dosage en équivalents de GA3 donne une concentration de 10 microgrammes par kilogramme d'algue fraîche. Par le même moyen JENNINGS met encore en évidence, en 1969, une substance antagoniste de la gibbérelline chez Ecklonia radiata. Cette substance inhibe la croissance du maïs nain traité avec GA3 (même à dose maximale) ; elle n'affecte pas, par contre, la croissance des plants de maïs normaux.

La même année GUPTA et SHUKLA (1969) signalent la présence, chez la Cyanophycée Phormidium faveolarum, d'une substance exaltant la croissance des plantules de riz et qui, d'après une étude chromatographique préliminaire, pourrait être de nature gibbérellique.

En 1969 également, BANERJEE et HORSLEY montrent l'existence de gibbérellines et de substances antagonistes chez la Chlorophycée Oedogonium cardiacum. La méthode utilisée comprend encore l'extraction aux solvants avec changement de pH et la chromatographie. Les algues lyophilisées sont extraites au méthanol dilué à 80 % dans l'eau ; l'extrait aqueux restant, après évaporation du méthanol, est ajusté à pH 8,4 par un tampon phosphate de sodium et extrait trois fois à l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est ensuite portée à pH 2,5 et extraite à nouveau à l'acétate. Les extraits à l'acétate sont chromatographiés sur couche mince de gel de silice dans différents solvants avant d'être analysés par le test classique "maïs nain".

. . .

On doit à MILLER et al. (1955) d'avoir isolé, à partir d'un hydrolysat d'acide désoxyribonucléique de levure de bière, un dérivé de l'adénine, la 6-furfurylaminopurine, appelée également kinétine à cause de sa propriété de provoquer les divisions cellulaires dans certains tissus. Par la suite, les substances naturelles ou de synthèse présentant des propriétés analogues furent baptisées du terme générique de cytokinines.

Les cytokinines naturelles constituent un nouveau groupe de substances de croissance dont on découvre chaque jour davantage l'importance dans les grandes fonctions physiologiques des végétaux. Récemment, certaines d'entr'elles on pu être chimiquement identifiées : la zéatine chez Zea mays (LETHAM 1963 et 1966), la n-méthyladénine chez Pisum sativum (ROGOZINSKA et al. 1965), l'isopentenyl-adénine chez Corynebacterium fascians (HELGESON et al. 1966), la dihydrozéatine chez Lupinus luteus (KOSHIMIZU et al. 1967) et la 2-méthylthiozéatine riboside chez Triticum vulgare (HECHT et al. 1969). En outre, un nombre important de travaux a permis de mettre en évidence la présence de cytokinines naturelles non identifiées chez une cinquantaine d'espèces de végétaux supérieurs (voir BUI DANG HA 1970). Chez les algues, par contre, la recherche des cytokinines n'a donné lieu qu'à un nombre très réduit de publications : BENTLEY-MOWAT (1967), BENTLEY et al. (1968), JENNINGS (1969), HUSSAIN et al. (1969).

BENTLEY et al. ont démontré l'existence de substances semblables aux cytokinines chez les algues unicellulaires marines, Gymnodinium splendens et Pheodactylum tricornutum ainsi que sur un échantillon de phytoplancton marin comprenant surtout des Diatomées. L'extraction inspirée des travaux de LOEFFLER et al. (1964) comprend essentiellement le traitement aux solvants sélectifs et la chromatographie. Les algues sont extraites à l'acétone aqueux (90 %), le mélange est filtré et le filtrat repris au benzène par étape successives. L'extrait est alors chromatographié sur papier et les chromatogrammes développés à l'aide de deux solvants différents. Les chromatogrammes sont ensuite analysés par le test biologique "feuille de radis" (KURAISHI 1959) ; test qui n'est malheureusement pas entièrement spécifique des cytokinines puisque les gibbérellines sont actives aux concentrations de 10^{-4} à 10^{-6} grammes par millilitre. Le dosage par le test biologique, en équivalent de kinétine, donne des concentrations qui varient de 0,1 à 10 microgrammes par kilogramme d'algue fraîche.

La technique d'extraction utilisée par JENNINGS (1969), inspirée de la méthode de LETHAM (1963) est entièrement différente de celle employée par BENTLEY et al. . Le traitement débute par l'extraction à l'éthanol, l'extrait étant ensuite filtré et repris à l'eau à pH 3 et à l'acétate d'éthyle. La phase aqueuse est déposée sur une colonne de résine AMBERLITE dont l'élution au NH_4OH et HCl donne différentes fractions qui sont ensuite chromatographiées sur papier WHATMANN n°3. Les chromatogrammes sont analysés par le réactif bleu de WOOD et le test biologique "senescence de la feuille d'orge" (KENDE 1964) basé sur la rétention de la chlorophylle par la kinétine. De cette façon, JENNINGS a mis en évidence une faible activité de type cytokinine chez la Rhodophycée Hypnea musciformis

tandis que les extraits de la Phéophycée Ecklonia radiata renfermaient deux substances semblables aux cytokinines et une substance inhibitrice sur le test biologique.

HUSSAIN et al. trouvent, en 1969, des substances semblables à la kinétine dans le stipe et les crampons de l'algue brune Laminaria digitata. L'extrait brut au méthanol aqueux (70 %) réduit par évaporation du méthanol à la seule phase aqueuse, est purifié à l'éther de pétrole puis ajusté à pH 5,5. Cet extrait aqueux est alors chromatographié sur une colonne de résine DOWEX 50 W à l'aide d'un éluant ammoniacal et les fractions sont chromatographiées sur papier. Les chromatogrammes sont analysés par le test biologique "senescence des feuilles de radis" (KURAISHI 1959). Les éluats des zones actives des chromatogrammes donnent, au spectrophotomètre, des pics d'absorption à 265 nm à deux sommets pour les crampons et à un seul sommet pour le stipe.

CHAPITRE 3 : ACTION DES PHYTOHORMONES SUR LES ALGUES

Parallèlement aux tentatives d'extraction et d'identification des hormones endogènes, les chercheurs ont voulu voir si les phytohormones avaient, chez les algues, une action semblable à celle qu'elles ont sur les végétaux supérieurs, en particulier sur leur croissance, leur développement, leur reproduction, etc... Les expériences, particulièrement nombreuses, dans ce domaine, n'ont fait que rarement l'objet de travaux de synthèse ; seuls CONRAD et al. (1962), puis LANG (1965) ont réalisé un travail de cet ordre qui devait me servir, au départ, de référence bibliographique.

Etant donné que la présence universelle et le rôle essentiel des auxines chez les plantes supérieures ont été reconnus bien avant ceux des gibbérellines et des cytokinines, il n'est pas étonnant que les expériences sur les auxines soient également plus nombreuses chez les algues. Il n'est pas surprenant non plus que la plupart des expériences concernent la croissance et le développement des thalles puisque les hormones végétales sont considérées avant tout comme "substances de croissance". Il convient par ailleurs de souligner que l'on a beaucoup travaillé sur les algues unicellulaires qui sont relativement faciles à cultiver.

. . .

Les premières expériences ont été réalisées sur la Chlorophycée unicellulaire Chlorella ; elles ont tout d'abord donné des résultats contradictoires. YIN (1937) fait état d'une augmentation de 20 % de la taille des cellules de Chlorella vulgaris avec 10 mg/l d'AIA, par contre, comme le prouvent les numérations cellulaires, la division cellulaire n'est pas influencée. PRATT obtient, en 1938, des résultats opposés avec la même espèce. LEONIAN et al. (1937) et LILLY et LEONIAN (1941) n'ont pas réussi à déceler une action de l'AIA sur la croissance de Chlorella vulgaris, C. miniata et C. pyrenoidosa. BRANNON (1937), puis BRANNON et al. (1939) constatent, en revanche, une augmentation de l'ordre de 120 % du nombre de cellules sous l'action de 10 ppm d'AIA sur Chlorella vulgaris et C. pyrenoidosa mais n'observent aucune influence sur leur taille. En 1945, BRANNON et SELL constatent aussi une stimulation de croissance de C. pyrenoidosa avec une

concentration de 10 et 20 ppm d'AIA, concentration que MANOS (1945) considère comme inhibitrice de la croissance de C. vulgaris. LANG (1965) suggère trois arguments pour expliquer les contradictions de ces résultats. En premier lieu, les sensibilités des différentes espèces et des différentes variétés du même genre sont souvent très différentes. Ceci est démontré par les expériences d'ALGEUS (1946) qui obtient des résultats significatifs avec seulement trois des dix espèces ou variétés étudiées. ALGEUS signale en outre que le pH est important pour l'uniformité des résultats. En second lieu, les résultats d'ALGEUS indiquent que les conditions de culture et la composition du milieu nutritif ne sont pas sans importance. La stimulation de la croissance est plus accusée dans de mauvaises conditions de culture (milieu sans sucre, éclairement insuffisant) et nettement plus faible dans de bonnes conditions (éclairement optimal, agitation). Enfin, les premiers chercheurs ayant obtenu des résultats positifs utilisaient souvent l'auxine en solution éthanolique. Or BACH et al. (1958) et STREET et al. (1958) démontrent que l'alcool par lui-même peut stimuler la croissance de nombreuses algues. STREET et al., utilisant Chlorella vulgaris, trouvent par exemple, que 20 mg/l d'AIA donnent un accroissement de 12 % sans alcool et de 150 % avec 0,4 ml/l d'éthanol ; BACH et al. (1958) n'obtiennent par contre aucun résultat probant avec ou sans alcool. A la lumière des travaux d'ALGEUS (1946) et de PRATT (1938), qui montrent l'action positive d'autres substances jouant le rôle d'aliments, on pourrait penser que les algues utilisent l'AIA comme source de carbone et d'azote. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les concentrations utilisées par ces auteurs sont trop élevées pour qu'il s'agisse d'une action seulement hormonale. Cependant ROBORGH et al. (1948) montrent qu'il s'agit bien d'une action de type hormonal puisque l'augmentation maximum de la taille de C. vulgaris est obtenue avec une concentration de 1 ppm (0,1 ppm provoque le même phénomène mais à un degré moindre, tandis que 10 ppm sont inhibiteurs). Ils démontrent également que l'AIA n'influence pas de manière directe la multiplication cellulaire. La croissance est stimulée à un degré tel que les cellules arrivent plus vite à leur taille maximum ce qui provoque par contre coup la division cellulaire. Ces résultats sont confirmés par d'autres auteurs. KIM (1961 et 1962), KIM et al. (1961) montrent que 1 ppm d'AIA n'a pas d'effet sur C. pyrenoidosa, 5 à 10 ppm augmentent le nombre de cellules et la masse totale ; enfin 25 ppm et plus inhibent la croissance. AHMAD et al. 1968 montrent également que l'AIA provoque une augmentation de croissance considérable de C. pyrenoidosa, de même que PALAMARCHUK et al. (1969) sur C. vulgaris. Enfin TAUTS et al. (1971) démontrent, par l'analyse chimique, que l'AIA est une hormone naturelle chez Chlorella sp. et, par la culture, que l'AIA extrait de cette algue et l'AIA

du commerce favorisent, l'un comme l'autre (concentration : 10^{-5} M), la multiplication cellulaire et la productivité.

En ce qui concerne les autres algues unicellulaires, les expériences donnent également des résultats divergents. LEONIAN et al. (1937) sur Cystococcus cohoerens, Oocystis noegelii et Scenedesmus flavescens, BRANNON et al. (1939) sur Mesotoenium caldariorum, BACH et al. (1958) sur Coccomyxa simplex, Euglena gracilis et Scenedesmus obliquus, FANG et al. (1959) sur Dunaliella salina, TEPASKE et al. (1967-68) sur Eudorina elegans et FERNANDEZ et al. (1968) sur Anaboena variabilis, Euglena gracilis, Chlorococcum sp., Protococcus viridis et Scenedesmus obliquus n'observent aucune influence favorable de l'AIA sur la croissance quelle que soit sa concentration dans le milieu de culture. Par contre de nombreux auteurs signalent l'effet bénéfique de l'AIA sur la croissance d'autres algues unicellulaires. Le premier travail dans ce domaine est celui de BRANNON (1937 et 1939) qui signale une accélération de la croissance d'Oocystis sp. et de Coccomyxa simplex avec 10 à 300 ppm d'AIA. ELLIOT (1938 et 1939) obtient une augmentation du taux de division cellulaire chez Euglena gracilis sous l'action de l'AIA. Des résultats positifs sont obtenus également avec les Diatomées (HARDER 1943, LEVRING 1945). BENTLEY (1958) et BENTLEY-MOWAT (1967 a) obtient non seulement une accélération de l'allongement mais aussi une augmentation du nombre de cellules chez Skeletonema costatum avec 10^{-10} à 10^{-11} g/ml d'AIA. Les expériences de BONIN (1969) montrent enfin, que si l'AIA n'a aucune influence favorable sur le grandissement cellulaire de Choetoceros affinis, il accélère, par contre, la division. Dunaliella salina est étudiée également par plusieurs auteurs : GUO (1959) n'obtient aucun résultat sur la division cellulaire, KUO (1960) enregistre des résultats négatifs avec 0,4 microgramme/ml d'AIA et positifs avec 0,9 microgramme/ml tandis que GOTTING (1963) observe une augmentation de la division cellulaire de Dunaliella euchlora avec 2 microgrammes/l d'AIA. ALGEUS (1946) obtient une accélération importante de la division cellulaire de Scenedesmus obliquus et Ankistrodesmus falcatus, résultat confirmé par les travaux d'AHMAD (1968). KIM (1961 et 1962), puis DAVIS (1964) et AHMAD (1968) notent également une influence favorable de l'AIA sur la croissance d'Anaboena circinalis, A. cylindrica, A. planktonika et A. variabilis. Les expériences de DAVIS sont assez originales puisque l'application de l'AIA aux cultures n'est pas réalisée en laboratoire mais in situ (culture dans des récipients attachés à des poutres flottant dans un étang). Citons encore les résultats positifs obtenus par CONRAD (1965) sur Stephanoptera gracilis et par AHMAD (1968, 1970 et 1971) sur Anacystis nidulans, Chlorogloea fritschii, Phormidium foveolarum et Tolypothrix tenuis. Enfin deux auteurs, DAO (1954 et 1956)

et THIMANN et al. (1959), signalent l'action favorable de l'AIA sur la croissance d'une Chlorophycée marine unicellulaire déjà utilisée dans de nombreux travaux de physiologie : Acetabularia mediterranea.

Outre l'AIA d'autres composés indoliques sont essayés sur les algues unicellulaires. L'AIP favorise la division cellulaire de Chlorella vulgaris, C. pyrenoidosa, Coccomyxa simplex, Mesotoenium caldariorum et Oocystis sp. (BRANNON 1937, BRANNON et al. 1939) et de Chlorella vulgaris (PRATT 1938) tandis qu'il exerce une action peu marquée ou nulle sur Ankistrodesmus falcatus, Chlorella sp., C. vulgaris, Scenedesmus acuminatus, S. acutiformis, S. dimorphus et S. quadricauda (ALGEUS 1946). BRANNON (1937), PRATT (1938), BRANNON et al. (1939) et ALGEUS (1946) obtiennent les mêmes effets sur les mêmes espèces avec l'AIB, résultats confirmés par ELLIOT (1938 et 1939) sur Euglena gracilis. Le tryptophane accélère la croissance d'Acetabularia mediterranea (DAO 1956) de même que l'IAN et l'acétate indolyl-3-méthylique (THIMANN et al. 1959). Signalons enfin les travaux d'AHMAD et al. (1968) et d'AHMAD (1970) qui donnent les résultats suivants : la tryptamine augmente la croissance d'Anacystis nidulans, de même que l'acide-5-hydroxy-indolyl-3-acétique et l'hydroxytryptamine ; le tryptophane exalte le développement de Phormidium foveolarum de même que l'acide-5-hydroxy-indolyl-3-acétique et l'hydroxytryptamine ; la tryptamine agit sur Tolypothrix tenuis de même que l'indole et l'acide-5-hydroxy-indolyl-3-acétique.

L'action de GA3 sur la croissance des algues unicellulaires a fait l'objet également d'un nombre assez important de travaux. Quatre auteurs seulement ont enregistré des résultats négatifs : CIFERRI et al. (1957) sur Chlorella vulgaris et Prototheca portoricensis, TAMIYA (1960) sur Chlorella sp., MASJUK (1961) sur Dunaliella salina et FERNANDEZ et al. (1968) sur Anaboena variabilis, Chlorella sp. et C. vulgaris, Chlorococcum sp., Euglena gracilis et Protococcus viridis. Les autres chercheurs ont obtenu des résultats positifs. GA3 stimule la croissance et la division cellulaire de Chlorella pyrenoidosa aux concentrations de 0,1 à 0,01 mg/l (PINEVICH et al. 1961), de 5 à 20 mg/l (KIM 1961 et 1962), de 1 à 10 mg/l (SAONO 1964), de 100 mg/l (BENDANA 1967), de 0,005 à 0,025 mg/l (OUSHEVA et al. 1968), de Chlorella vulgaris avec 25 mg/l (COHEN et al. 1963), avec 1 à 10 mg/l (SAONO 1964), avec 4 mg/l (PALAMARCHUK et al. 1969), de Chlorella de sorokin avec 25 mg/l (COHEN et al. 1963). GA3 stimule aussi la multiplication cellulaire de Dunaliella salina (GUO et al. 1959, KUO et al. 1960) ainsi que celle de D. euchlora (GOTTING 1963). En ce qui concerne les Diatomées, ERMOLAEVA et al. (1964) obtiennent une accélération des divisions cellulaires chez Asterionella gracillima, Fragilaria capucina, Melosira granulata et Synedra ulna (0,003 à 0,03

mg/l de GA3), RAMAMURTHY et al. (1966) et RAMAMURTHY (1970) chez Melosira sulcata (1 à 2 mg/l de GA3) et BONIN (1969) chez Choetoceros affinis (0,02 mg/l de GA3). On remarque une augmentation de la taille chez Euglena sp. avec 1000 ppm de GA3 (GRIFFIN 1958) et chez Stephanoptera gracilis (CONRAD 1965). D'autres algues répondent au traitement de GA3 par une accélération des divisions cellulaires sans augmentation de taille ; ainsi la prolifération de Pediastrum boryanum est stimulée par 12 à 63 mg/l de GA3 (GORYACHEV 1963) ; celle de Scenedesmus obliquus et S. quadricauda ainsi que de diverses Chlorococcales (Actinastrum hantzchii, Ankistrodesmus acicularis, A. fusiformis, Coelastrum microporum, Pediastrum duplex) par 0,003 à 0,03 mg/l de GA3 (ERMOLAEVA et al. 1964) ; celle de Trichodesmum erythraneum par 1 à 2 mg/l de GA3 (RAMAMURTHY et al. 1966 et RAMAMURTHY 1970), et de Scenedesmus obliquus par 10 à 25 ppm de GA3 (FERNANDEZ et al. 1968) ; celle de Gymnodinium breve par 10^{-7} M/l de GA3 (PASTER et al. 1970) et enfin celles d'un certain nombre d'algues planctoniques (Aphanizomenon flos-aquae, Anaboena circinalis, A. planktonika, Ceratium hirundinella et Scenedesmus bijuga) par 0,1 à 0,2 mg/l de GA3 (DAVIS 1964). Enfin d'autres algues répondent à la fois par une élongation et par une division cellulaire ; citons les travaux d'ALBERT et al. (1959) sur Microcystis aeruginosa (10^{-9} à 10^{-5} M de GA3) ; de BURDETT et al. (1960) sur Chlamydomonas moewusii (1 à 700 ppm de GA3), de PETERFI et al. (1963) sur Coccomyxa dispar, Scenedesmus quadrispina et Stiggeoclonium variabile (0,0001 à 0,1 % de GA3), de SAONO (1964) sur Scenedesmus obliquus et S. quadricauda (1 à 10 mg/l de GA3) et de TEPASKE et al. (1967-68) sur Eudorinia elegans (inférieur à 75 ppm de GA3). Les expériences mentionnées dans ce qui précède ont été faites avec GA3 ; seuls JOHNSTON (1963) et BENTLEY et al. (1967 a et b) ont utilisé d'autres gibbérellines, les résultats obtenus par ces auteurs figurent dans le tableau 3.

L'étude de l'action des cytokinines sur la croissance des algues unicellulaires a été réalisée principalement avec la 6-furfurylaminopurine (= kinétine). TAMIYA et al. (1960) et FERNANDEZ et al. (1968) n'obtiennent aucun résultat sur Chlorella sp. et C. vulgaris tandis que KIM (1961 et 1962) note une accélération de la division cellulaire de C. pyrenoidosa, PALAMARCHUK et al. (1969) de C. vulgaris avec la K et OUSHEVA et al. (1968) de C. pyrenoidosa avec la 6-benzylaminopurine. A l'exception des résultats négatifs obtenus par FERNANDEZ et al. (1968) sur Chlorococcum sp., Protococcus viridis et Scenedesmus obliquus, l'action de la K sur les autres algues unicellulaires a toujours été positive. MOEWUS (1955 et 1959) a noté une stimulation de la division cellulaire de Polytoma uvella ; des résultats similaires sont obtenus par : SUPNIEWSKI et al. (1957 a et b) sur Euglena gracilis et Ochromonas malhamensis, KIM (1961 et 1962)

Tableau 3 : Résumé des résultats obtenus par JOHNSTON (1963) et par BENTLEY (1967) et BENTLEY et al. (1967) sur l'action des gibbérellines sur la croissance des algues unicellulaires.

AUTEURS	ACTION	GA1	GA2	GA3	GA4	GA5	GA7
JOHNSTON 1963	Inhibition	Choetoceros sp. Ditylum brightwellii Navicula sp. Nitzchia closterium Nitzchia delicatissima Peridinium sp. Skeletonema costatum Thalassiosira gravida		Ditylum brightwellii Navicula sp. Thalassiosira gravida	Nitzchia delicatissima Thalassiosira gravida	Navicula sp.	Nitzchia delicatissima
	Stimulation			Anaboena sp. Nitzchia closterium Nitzchia delicatissima	Peridinium sp.	Choetoceros sp. Ditylum brightwellii Nitzchia closterium Nitzchia delicatissima Thalassiosira gravida et surtout : Peridinium sp. Skeletonema costatum	Choetoceros sp. Ditylum brightwellii Navicula sp. Nitzchia closterium Peridinium sp. Skeletonema costatum Thalassiosira gravida (Moins marqués qu'avec GA5)
BENTLEY 1967 BENTLEY et REID 1967	Inhibition	Phaeodactylum tricornutum (fin croissance)			Phaeodactylum tricornutum (fin croissance)		
	Stimulation	Gymnodinium splendens Nannochloris oculata Phaeodactylum tricornutum (jeune)	Gymnodinium splendens Nannochloris oculata Phaeodactylum tricornutum		Gymnodinium splendens Nannochloris oculata Phaeodactylum tricornutum (jeune)		

sur Anaboena variabilis et Oedogonium cardiacum, DE VITRY (1962) sur Acetabularia mediterranea, BENTLEY (1967) et BENTLEY et al. (1967) sur Gymnodinium splendens, Nannochloris oculata et Phaeodactylum tricornutum et enfin FERNANDEZ et al. (1968) sur Anaboena variabilis. En ce qui concerne l'action des autres cytokinines on dispose de peu d'informations. SUPNIEWSKI et al. (1957 a et b) ont remarqué une légère stimulation de la croissance d'Euglena gracilis avec la 6-α-pyridylpurine et DE VITRY (1962) une stimulation de la croissance d'Acetabularia mediterranea avec l'adénine, aucun effet ni aucune inhibition n'étant observés par contre avec la mercaptopurine, la 6-éthylthiopurine et la 6-hydroxy-2-thiopurine.

. . .

Les expériences relatées ci-dessus montrent que les phytohormones excercent, en général, une action positive sur la croissance et la division des algues unicellulaires ; des résultats analogues ont été obtenus chez les algues pluricellulaires d'organisation plus complexe.

KYLIN (1942) révèle pour la première fois l'action des auxines sur les Chlorophycées pluricellulaires en démontrant que l'AIA stimule la croissance et la multiplication cellulaire chez Ulva lactuca et Enteromorpha linza ; ces résultats sont ensuite confirmés par LEVRING (1945), MULLER (1952), PROVASOLI (1957, 1958 a et b), NASR et al. (1969) sur Ulva rigida et par MULLER (1952) sur Enteromorpha compressa et E. clathrata. BAUDRIMONT (1961) n'observe par contre aucune action de l'AIA sur Ulva dangeardii, U. lactuca, Enteromorpha compressa, E. linza, Blidingia marginata et B. minima ; DOSTAL avait abouti à la même conclusion avec Caulerpa prolifera et C. olivieri, en 1945. En 1952, DAVIDSON démontre que l'AIA stimule la croissance cellulaire et non la division cellulaire chez Rhizoclonium hieroglyphicum ; il précise également que la croissance cellulaire porte essentiellement sur la longueur des cellules, la largeur n'étant pas affectée. La même année, WILLIAM montre qu'une application exogène d'AIA accélère la croissance, in situ, de Codium decorticatum et C. dichotomum surtout au niveau des segments apicaux. En 1957, PUISIEUX-DAO obtient une stimulation de la croissance de Batophora oerstedi en ajoutant de l'AIA au milieu de culture. Enfin, en 1965, CONRAD note une augmentation de la longueur du thalle d'Ulothrix subtilissima sous l'action de l'AIA, augmentation dûe davantage à une accélération de la division des cellules qu'à leur élongation.

Chez les Xanthophycées, seule l'espèce Vaucheria sessilis a été étudiée par KIM (1961 et 1962) qui a mis en évidence une stimulation de la croissance des filaments avec 10 ppm d'AIA.

Les Cyanophycées ont fait l'objet d'un nombre également très réduit de publications. BUNT (1961) montre qu'1 ppm d'AIA accélère la croissance de Nostoc sp., FERNANDEZ et al. (1968) obtiennent le même résultat sur Nostoc punctiforme avec 0,1 ppm d'AIA, AHMAD et al. (1968) et AHMAD (1971) observent enfin une croissance maximale de Nostoc muscorum avec 10^{-7} M d'AIA et de Chlorogloea fritschii avec 10^{-5} M d'AIA.

En ce qui concerne les Phéophycées, les expériences ont montré que la croissance de Laminaria agardhii (WILLIAM 1949) et Laminaria japonica (GUO 1959) est augmentée respectivement avec 1 mg/l et 10 ppm d'AIA ; celle de Fucus evanescens et Ascophyllum nodosum (DAVIDSON 1950) avec 10^{-4} M d'AIA ; celle de Fucus vesiculosus (MOSS 1965) avec 1 mg/l d'AIA et enfin celle de Dictyota dichotoma (NASR et al. 1969) avec 5 mg/l d'AIA.

Chez les Rhodophycées, IWASAKI (1965) a montré l'action positive de l'AIA (2 à 5 microgrammes/100 ml) sur la croissance de Porphyra tenera (phase Conchocelis), FELICINE et al. (1967) sur celle de Pterocladia capillacea (0,1 microgramme/ml) et NASR et al. (1969) sur la même espèce (5 mg/l).

Enfin chez les Charophycées, SANDAN et al. (1957) constatent l'action bénéfique de l'AIA sur la croissance de Nitella flexilis (0,07 à 10 mg/l selon les parties du thalle considérées).

A côté de l'AIA, seul l'AIB, parmi les autres composés indoliques, a été utilisé pour la croissance des algues pluricellulaires. DAVIDSON (1950 et 1952) signale l'effet bénéfique de cette substance sur Ascoplyllum nodosum, Fucus evanescens et Rhizoclonium hieroglyphicum, tandis que BAUDRIMONT (1961) n'obtient aucun résultat sur Blidingia marginata, B. minima, Enteromorpha compressa, E. linza, Ulva dangeardii et U. lactuca.

L'étude de l'action des gibbérellines sur la croissance des algues pluricellulaires se limite à quelques travaux utilisant surtout GA3. Cette hormone stimule la croissance des filaments zoosporiques d'Ulva lactuca (PROVASOLI 1957, 1958 a et b), elle stimule également la croissance de Porphyra tenera par augmentation des dimensions cellulaires et accélération des divisions nucléaires (KINOSHITA et al. 1958, IWASAKI 1965). GA3 est bénéfique également sur la croissance de Laminaria japonica (GUO 1959), d'Ulothrix subtillisima (CONRAD et al. 1959 et 1961, CONRAD 1965), de Vaucheria sessilis (KIM 1961 et 1962), de Coelastrum microporum (GATES et al. 1966), d'Enteromorpha prolifera et Ecklonia radiata (JENNINGS 1968). Par contre GA3 n'a aucun effet sur la croissance de Nostoc punctiforme (FERNANDEZ et al. 1968) et il provoque un retard du cycle mitotique chez Draparnaldia plumosa (ABBAS et al. 1965). Enfin, récemment, JENNINGS

(1971) a montré que GA3 et GA7 stimulent la croissance de Gracilaria verucosa mais que ces deux gibbérellines sont par contre sans effet sur Hypnea musciformis en culture.

En ce qui concerne les cytokinines, les études ont porté sur un nombre assez réduit d'espèces. La kinétine exerce une action positive sur la croissance d'Ulva lactuca (PROVASOLI 1957, 1958 a et b), de Spirogyra longata (OLSZEWSKA 1958), de Vaucheria sessilis (KIM 1961 et 1962), de Porphyra tenera (IWASAKI 1965), de Nostoc punctiforme (FERNANDEZ et al. 1968), d'Ectocarpus fasciculatus et de Pylaiella litoralis (PERDERSEN 1968), d'Hypnea musciformis (JENNINGS 1969). Il en est de même pour l'adénine qui influence favorablement la croissance d'Ulva lactuca (PROVASOLI 1957, 1958 a et b), de Spirogyra longata (OLSZEWSKA 1958), de Porphyra tenera (TERAMOTO et al. 1960, IWASAKI 1965) ; néanmoins son activité est en général plus faible que celle de la K. TERAMOTO et al. (1960) enregistrent des résultats également satisfaisants avec la guanine sur Porphyra tenera.

• • °

En marge des travaux sur la croissance proprement dite, d'autres auteurs auteurs ont étudié divers phénomènes physiologiques qui s'y rapportent plus ou moins directement : dominance apicale, régénération et morphogenèse. Les expériences de culture d'apex isolés de Fucus vesiculosus (MOSS 1965) démontrent clairement que même dans le thalle relativement simple de cette algue, il existe une dominance apicale comme chez les végétaux supérieurs et que cette dominance est sous l'influence des auxines. Par des expériences similaires de décapitation, LIBBERT et al. (1965) révèlent l'existence d'une dominance apicale chez les Characées et sa modification possible par l'AIA et par une antiauxine. Les expériences de MOSS (1958 et 1965) montrent également que les auxines ont un rôle à jouer dans le phénomène de la régénération des thalles découpés. Ce résultat est confirmé par les expériences de MULLER (1952) sur Enteromorpha compressa et de FELICINI et al. (1967) sur Pterocladia capillacea ; l'AIA favorise la formation des régénérats sur les bords des coupures et la formation des rhizoïdes chez Enteromorpha et il augmente enfin la régénération des bourgeons adventifs chez Pterocladia. Ces expériences démontrent en même temps que les auxines sont probablement impliquées dans les phénomènes de morphogenèse. A cet égard, les expériences avec Acetabularia mediterranea ou A. crenulata sont très concluantes ; chez cette espèce la formation de la "tige" et celle du "chapeau" sont influen-

cées par l'AIA (DAO 1956, THIMANN et al. 1959), par GA3 (ZETSCHE 1963) et par la K (DE VITRY 1962, ZETSCHE 1963, SPENCER 1968). Il a été démontré également que l'AIA avait une influence sur la morphogenèse des rhizoïdes chez Fucus vesiculosus (OLSON 1937), Bryopsis plumosa (JACOBS 1951), Nitella flexilis (SANDAN et al. 1957 et 1958), une influence aussi sur la formation des "bourgeons" chez Nitella flexilis (SANDAN et al. 1957 et 1958) et sur la formation de filaments atypiques chez Ulva lactuca (PROVASOLI 1957 et 1958). GA3 participe à la formation des "bourgeons" et des rhizoïdes chez Nitella flexilis (SANDAN 1959) et des flagelles chez Chlamydomonas moewusii (BURDETT et al. 1960). Enfin PROVASOLI (1957 et 1958) a montré, non seulement que la K et l'adénine ont une influence sur la formation de filaments nouveaux chez Ulva lactuca mais encore que les tissus en régénération ne donnent une lame normale que si l'adénine et la K sont présentes dans le milieu de culture.

On a observé que les phytohormones participent non seulement aux processus de croissance et de développement chez les algues mais aussi aux phénomènes de reproduction sexuée et asexuée. Comme nous l'avons déjà souligné, les phytohormones, en accélérant les divisions cellulaires, agissent sur la multiplication des espèces chez les algues unicellulaires. Ajoutons que GA3 provoque la formation de kystes chez Euglena sp. (GRIFFIN 1958) et de spores chez Vaucheria sessilis (KIM 1962) et que les purines déclanchent la multiplication asexuée chez Porphyra sp. (TERAMOTO et al. 1960). DENFFER et HUSTEDE (1955) et HUSTEDE (1957) décrivent, le rôle des composés indoliques dans la multiplication végétative et la reproduction sexuée des Vaucheria et de Stigeoclonium. L'AIA stimule la formation des zoospores chez Stigeoclonium facklandicum et la synsporulation chez Vaucheria sessilis (la synsporulation est induite également par l'acide indolyl-3-glycoxylique, la tryptamine, le tryptophane, le tryptophol et l'AIP). La formation des gamétanges de Vaucheria sessilis, V. geminata et V. synandra est favorisée par l'acide indolyl-3-carboxylique (l'IA et l'indole ont un effet identique sur V. sessilis, tandis que le tryptophane l'inhibe) et la formation des oogones de V. sessilis est induite par l'acide indolyl-3-carboxylique. En ce qui concerne la reproduction sexuée, citons encore l'influence favorable de l'AIA et du tryptophane sur la formation du "chapeau" (= "organe" reproducteur) chez Acetabularia mediterranea (DAO 1956), la diminution de l'activité sexuelle de Chlamydomonas moewusii sous l'action de GA3 (BURDETT et al. 1960) et l'accélération de la formation des zoospores sous l'influence de l'AIA chez Ulva lactuca (NASR et al. 1969).

Il a été démontré enfin que les phytohormones interviennent également dans les différents processus métaboliques des algues. L'AIA

intensifie la respiration de Porphyra tenera (OGATA et al. 1964), les purines celle de Anacystis nidulans, Ankistrodesmus falcatus, Chlorella ellipsoïdea, C. luteoviridis, C. pyrenoidosa, C. variegata, C. vulgaris, C. xanthella, Chloridella minuta, Chlorococcum macrostiginatum, Coelastrum microporum et Euglena gracilis (BACH 1961, BACH et al. 1959, 1960, 1961). GA3 augmente le taux de pigments chez Chlorella pyrenoidosa (OUSHEVA et al. 1968) et l'assimilation chlorophyllienne chez Gracilaria corticata, Sargassum sp. et Ulva fasciata (RAJU 1971). La K élève la teneur en chlorophylle de Gymnodinium splendens, Nannochloris oculata et Phaeodactylum tricornutum (BENTLEY et al. 1967) et ralentit la dégradation des chlorophylles chez Monostroma balticum (HOFFMANN 1969), chez Oscillatoria animalis et Phormidium favosum (HOFFMANN et al. 1970). La 6-benzylaminopurine augmente à la fois le taux de pigments et de protéines chez Chlorella pyrenoidosa (OUSHEVA et al. 1968). L'AIA stimule l'incorporation de proline C^{14} chez Chara globulis (KURAISHI et al. 1968) et l'absorption du potassium (K^{42}) chez Nitella translucens (STOLAREK 1968). Enfin la K active très faiblement la formation de phosphatase alcaline chez Acetabularia crenulata (SPENCER 1968).

. . .

A côté des phytohormones naturelles, certains auteurs ont examiné l'action d'une foule d'autres produits naturels ou de synthèse ; nous laisserons de côté la plupart d'entre eux (vitamines, antibiotiques, enzymes, stéroïdes, hydroxamates, antimétabolites, acides aminés, acides nucléiques, colchicine, etc...) et nous bornerons à citer les travaux portant sur quelques produits utilisés en agriculture et en laboratoire : 2.4-D, ANA, acide abscissique, substances extraites du pétrole.

Le 2.4-D provoque l'inhibition de la photosynthèse de Chlorella pyrenoidosa (ERICKSON et al. 1955), il affecte également la perméabilité cellulaire à de nombreuses substances, le quotient respiratoire des cellules et stimule la glycolyse (WEDDING et al. 1957, 1959 et 1961, SWEETS et WEDDING 1964). Il inhibe la croissance des bourgeons et accélère celle des rhizoïdes chez Nitella flexilis (SANDAN 1958) tandis qu'il n'a aucun effet sur l'absorption du potassium par Nitella translucens (STOLAREK 1968). Chez Chlorella sp., il n'exerce pas d'action bien marquée (TAMIYA et al. 1960) tandis que chez Chlorella pyrenoidosa et Oedogonium cardiacum il inhibe la croissance et s'oppose à l'action de l'AIA (KIM 1961 et 1962, KIM et al. 1961). MOSS (1965) a montré que le 2.4-D a une faible activité sur la régénération des sommets apicaux de Fucus vesiculosus cultivés

in vitro, KURANCOWA (1966) qu'il freine la germination des palmelles et augmente la longévité d'*Euglena gracilis* et SCHRODER (1970) et SCHRODER et al. (1967) qu'il augmente la synthèse des acides nucléiques et enfin qu'il tue ou conduit au gigantisme les cellules de *Poteriomonas stipitata*.

L'ANA stimule les divisions cellulaires de *Chlorella vulgaris*, *C. pyrenoidosa*, *Oocystis sp.*, *Coccomyxa simplex* et n'a pas d'effet sur *Mesotaenium caldariorum* (BRANNON 1937, BRANNON et al. 1939). L'ANA accélère la croissance d'*Euglena gracilis* (ELLIOT 1939), de *Fucus evanescens*, *Ascophyllum nodosum* et *Rhizoclonium hieroglyphycum* (DAVIDSON 1950 et 1952). Sur *Acetabularia mediterranea*, cette substance augmente très faiblement la croissance générale (DAO 1956) et favorise la formation du "chapeau" (THIMANN et al. 1959) ; sur *Nitella flexilis* l'ANA est plus favorable à la morphogenèse des rhizoïdes qu'à celle des bourgeons (SANDAN 1958). Enfin, en 1962, LUCK montre que l'ANA favorise, au début de la croissance de *Chaetomorpha linum*, la division cellulaire puis le taux d'allongement et MOSS, en 1965, note une action similaire à celle de l'AIA sur *Fucus vesiculosus* en remarquant que la régénération des ramifications des apex privés de cellules apicales est inhibée par l'ANA.

Une seule publication signale l'action de l'acide abscissique, celle de JENNINGS (1969) qui montre que cette hormone inhibe la croissance du gamétophyte d'*Ecklonia radiata*.

Signalons, pour terminer, l'action des substances de croissance extraites du pétrole. ASAUL (1967) montre que l'OGM (Oil Growth Matter) inhibe la croissance de *Chlorella sp.* tandis que PALAMARCHUK et al. (1969) obtiennent une stimulation de la croissance de *Chlorella vulgaris* et ZGUROVSKAJA (1969) une augmentation de la division cellulaire et de l'intensité de la photosynthèse de *Chaetoceros curvisetus*.

DEUXIEME PARTIE

METHODES et TECHNIQUES

CHAPITRE 1 : EXTRACTION, PURIFICATION ET IDENTIFICATION DES PHYTOHORMONES DE CROISSANCE

I. - CONSIDERATIONS GENERALES

L'exposé historique qui précède a montré la diversité des techniques d'analyse utilisées. Il n'existe pas, en effet, de méthode universelle permettant d'identifier toutes les substances de nature hormonale contenues dans les extraits. Ceci tient au fait que les méthodes d'extraction et de purification comme celles d'isolement des produits actifs soulèvent un ensemble de difficultés qu'il convient tout d'abord de rappeler.

Alors que les hormones animales sont élaborées dans des organes spécialisés, la biogénèse des phytohormones ne se fait pas, chez les plantes, dans des organes bien individualisés ; leur extraction nécessite donc l'utilisation d'un broyat de la totalité de la masse végétale. L'extrait ainsi obtenu contient, d'emblée, une quantité importante de produits gênant l'analyse et dans laquelle les hormones sont considérablement dispersées. Cette dilution des substances actives est d'autant plus grande que les hormones, agissant à des doses infimes, se trouvent, dans le végétal, à des concentrations excessivement faibles, de l'ordre de $1/10^6$: $1/10^8$ dans le blé (VAN OVERBECK 1940), $1/5.10^5$ chez l'algue rouge Botriocladia botryoïdes qui est exceptionnellement riche (AUGIER 1965 a).

Pour extraire une substance représentant 0,000 001 % du mélange, il faut donc en éliminer, par étapes, 99,999 999 %. L'épuration de l'extrait brut se fait par élimination successive de l'eau, des substances minérales et des produits organiques. Ces derniers sont essentiellement des protides, des glucides, des lipides et des pigments. Chez les algues, une mention spéciale doit être faite pour les pigments qui, par leur variété, leur concentration importante et le fait qu'ils colorent très vivement les extraits, gênent considérablement les diverses phases de l'analyse. Ces pigments perturbent plus particulièrement l'analyse chromatographique en encombrant la ligne de spot (empêchant même la réalisation d'un dépôt correct), en contrariant la montée des substances indoliques, en interférant avec les teintes données par les réactifs biochimiques et rendent finalement l'interprétation des chromatogrammes difficile, sinon impossible.

Le choix des méthodes conduisant à l'élimination de cette masse de produits doit tenir compte également de la grande labilité des substances de croissance. De nombreux auteurs (Cf. PILET 1961) ont montré que les

auxines pouvaient être altérées par la température et la lumière et qu'elles étaient susceptibles d'être dégradées par des systèmes de nature enzymatique ; certains ont précisé, par ailleurs, que des composés actifs supplémentaires pouvaient se former en cours d'extraction. Il conviendra donc d'éviter l'utilisation de phases aqueuses prolongées, les changements trop fréquents de solvants, les variations de pH, l'exposition prolongée à la lumière et à la température ainsi que les manipulations trop longues.

Enfin l'échantillonnage et la préparation des échantillons devront être réalisés avec le plus grand soin afin de ne pas fausser les résultats au départ. Les épiphytes, quand ils existent, devront être éliminés bien que, dans certains cas, il soit difficile de les enlever tous surtout lorsqu'ils sont microscopiques comme les Diatomées. Il faudra tenir compte encore de l'existence d'endophytes chez certaines espèces (COTTON 1926, FELDMANN 1937). On ne doit pas ignorer enfin l'existence de bactéries marines qui jouent un rôle non négligeable dans la genèse des auxines chez les algues (SCHIEWER 1967, SCHIEWER et al. 1967).

II. - PREPARATION DES ECHANTILLONS

1°) Récolte et contrôles

Les algues sont prélevées entières et avec grand soin afin d'éviter d'endommager les thalles ; à cet effet, dès que la profondeur dépasse quelques mètres, la cueillette se fait en plongée à l'aide du scaphandre autonome. Le ramassage est, si possible, réalisé dans la partie la plus homogène du peuplement d'après les lois sociologiques classiques (AUGIER et al. 1971). On note dans quelle biocénose l'échantillonnage est réalisé, les affinités sociologiques de l'espèce prélevée, ainsi que l'appréciation des conditions écologiques générales qui règnent à son niveau (profondeur, éclairement, température, hydrodynamisme, pollution, etc...). Au laboratoire, ces notes sont complétées par la mensuration moyenne des espèces par un échantillonnage statistique, par des observations sur leur stade de développement, leur état, etc... Lors de la cueillette, les algues sont placées dans des récipients en polyéthylène, remplis d'eau de mer, qui serviront aussi pour le transport au laboratoire. Là les échantillons sont triés puis débarrassés des épiphytes s'il y a lieu. L'examen de quelques espèces à la loupe binoculaire et au microscope permet de contrôler si l'algue présente des épiphytes microscopiques et des endophytes non visibles à l'oeil nu. Au cours de ces diverses manipulations il faut éviter de couper, pincer, presser

les thalles car tout traumatisme important risquerait de fausser les résultats.

Après un lavage léger et un essorage à faible vitesse pour éliminer les sels et une partie de l'eau d'imbibition, les échantillons sont portés vivants au lyophiliseur.

2°) Lyophilisation

La lyophilisation a pour but de déshydrater entièrement le végétal sans altérer sa structure ; c'est un moyen commode d'éliminer une grande partie de l'eau avant l'extraction par les solvants.

L'opération est réalisée à l'aide d'un appareil de notre fabrication (AUGIER 1970), à une température de -40°C et sous un vide limite de 4.10^{-4} mm de mercure.

La lyophilisation présente un avantage capital en auxinologie (AUGIER 1970). La température très basse ainsi que l'absence d'oxygène et d'eau libre suppriment la dégradation biochimique des hormones qui se produit immanquablement si l'on utilise d'autres techniques (dilacération, broyage au mortier, etc...) qui libèrent, dans l'extrait brut, une foule d'effecteurs et en particulier des enzymes n'exerçant normalement pas d'action directe dans le thalle vivant. GASPAR (1965) a montré que la libération d'auxines-oxydases dans un extrait entraîne une inactivation considérable des auxines endogènes et fausse donc les résultats des dosages. Or, les travaux de KRIENKE (1966) ont mis en évidence la présence d'auxines-oxydases chez les algues et il est certain que seule la lyophilisation peut garantir la conservation complète des auxines endogènes en bloquant toute réaction susceptible de les dégrader.

Outre cette importante sécurité dans la préparation de l'extrait, la lyophilisation présente encore d'autres avantages. Elle facilite le stockage de la poudre en sorte que les expériences ne sont plus soumises aux saisons. La récolte se fait au moment choisi du développement de l'algue tandis que les analyses pourront être réalisées à n'importe quelle période de l'année. Il est possible aussi, par ce procédé, de garder une certaine quantité de poudre témoin qui pourra servir ultérieurement à contrôler les résultats obtenus avec un matériel identique.

Le "lyophilisat" est réduit en poudre fine au turbomixer et ensuite micropulvérisé au broyeur à billes. La poudre lyophilisée sera conservée indéfiniment en la plaçant dans une enceinte close, sous vide ou contenant un gaz rare (HECKLEY 1961, REY 1962).

III. - RECHERCHE DES AUXINES (Figure 1)

1°) Prise aux solvants

La poudre sèche obtenue par lyophilisation est intimement mélangée à un liquide. Une première purification de l'extrait brut ainsi obtenu consiste à le fractionner en deux parties : l'une soluble dans le liquide utilisé, l'autre insoluble. Cette extraction peut être réalisée avec de l'eau ou avec un ou plusieurs solvants organiques. Il faut éviter une extraction aqueuse prolongée qui donne une faible quantité d'auxines (les hormones étant bien souvent inactivées par voie enzymatique et la solubilité de l'AIA dans l'eau ayant un seuil très faible), ainsi que l'extraction alcaline qui provoque l'apparition de composés actifs supplémentaires. L'emploi de plusieurs solvants est assez répandu. L'extraction préliminaire à l'eau ou à l'alcool est suivie de deux purifications, la première à l'acétate d'éthyle pour éliminer les glucides et les autres corps hydrophiles, la seconde au bicarbonate de soude. Les composés actifs (acides), transformés en sels, passent dans la phase aqueuse tandis que l'acétate contenant des substances neutres, des lipides et des pigments est éliminé. Finalement les substances actives sont reprises à l'éther et la phase bicarbonate éliminée à son tour. Mais ce traitement n'est pas applicable à tous les produits de croissance et les transformations qu'il nécessite entraînent des pertes non négligeables. NITSCH (1960 b) a montré que chaque phase éliminée contenait des substances actives, parfois en quantité considérable. C'est pour cette raison que certains auteurs ont repris l'extraction par les seuls solvants organiques lorsque l'extrait brut n'est pas trop chargé en pigments et en lipides ou lorsqu'il est très riche en auxines. Parmi les solvants organiques, NITSCH et NITSCH (1960 b) recommandent le méthanol qui semble être le moins favorable à l'action des oxydases destructrices des auxines. C'est le solvant que nous utilisons pour l'extraction préliminaire.

La poudre d'algue est mise en suspension dans le méthanol à 0°C pour une durée de 48 à 120 heures selon l'expérience. Le tout est ensuite centrifugé à 5000 tours par minute, pendant quatre minutes. La phase liquide est recueillie et le dépôt traité à nouveau. L'opération est ainsi répétée quatre à cinq fois à raison de 100 ml de méthanol pour 1 gramme de poudre. Le culot de centrifugation est éliminé et le méthanol évaporé au ROTAVAPOR BUCHI.

L'extrait brut méthanolique fait ensuite l'objet de fractionnements successifs par filtration moléculaire sur gel de dextrane et par chromatographie sur papier et sur plaque.

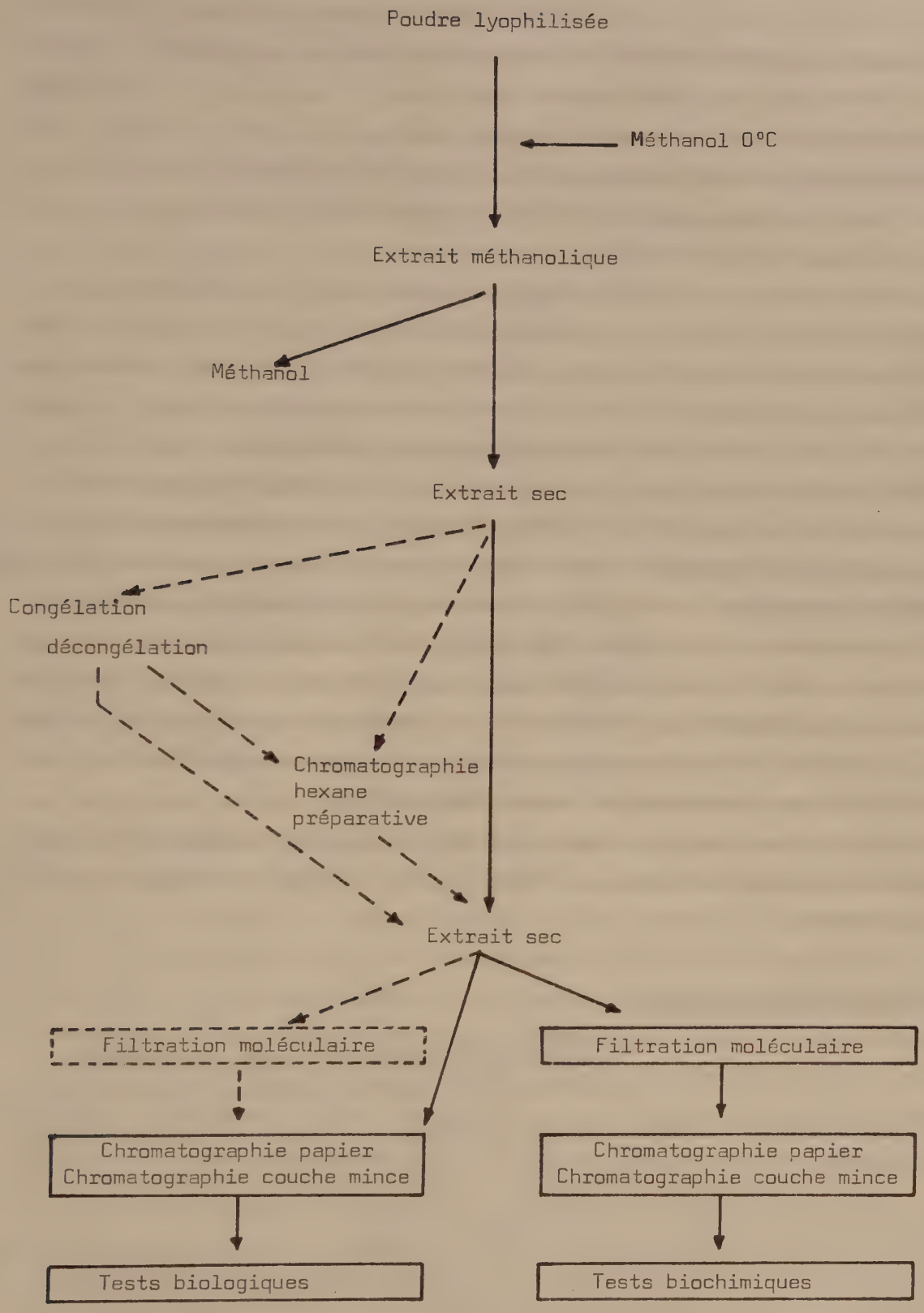


Figure 1 : Schéma de la méthode générale d'extraction des auxines des algues (en pointillés les traitements facultatifs).

Si l'extrait brut est particulièrement chargé en pigments ou si le volume d'élution de ces derniers dans la perméation sur gel est voisin ou identique à celui des composés indoliques, il conviendra de faire subir au mélange un traitement complémentaire selon le procédé proposé par HARADA (1962). L'extrait méthanolique sec, obtenu par évaporation du méthanol au ROTAVAPOR, est repris à l'eau à la température de 1°C et l'ensemble porté immédiatement à - 25°C de façon à ce que la transformation par voie enzymatique n'ait pas le temps de se faire. Le bloc de glace est ensuite dégelé doucement jusqu'à une température de 3°C, ce qui entraîne la formation, dans la solution aqueuse, d'un amas solidifié contenant une grande quantité de pigments. Une filtration sur papier WHATMANN permet d'éliminer la fraction insoluble qui est lavée 3 ou 4 fois à l'eau à la température de 1°C, puis jetée. Les filtrats aqueux sont immédiatement réunis, congelés, puis lyophilisés. Le lyophilisat est broyé par la méthode habituelle et la poudre obtenue est mélangée à du méthanol tandis que les produits insolubles sont éliminés après 3 ou 4 lavages méthanoliques et filtration sur papier WHATMANN n° 40. Ce procédé de congélation ne réussit pas avec les extraits bruts de toutes les algues ; pour certaines, un procédé d'épuration par chromatographie dans l'hexane s'avère nécessaire. L'extrait brut méthanolique est déposé sur une bande très large de papier chromatographique WHATMANN MM. Le chromatogramme est ensuite développé avec de l'hexane (chromatographie ascendante uni ou bidimentionnelle) qui n'a aucune affinité pour les substances acides. Ces dernières restent concentrées sur le spot de dépôt alors que les autres se répartissent sur l'ensemble du chromatogramme. On découpe alors ce spot, on l'élue et on le purifie si nécessaire par le procédé précédent.

2°) Purification de l'extrait

a) Filtration moléculaire sur gel de dextranes.

Après traitement par les solvants, l'extrait brut contient encore une masse importante de substances qui rendent difficile l'analyse chromatographique. La majeure partie de ces produits va être éliminée par une technique de filtration sur "tamis moléculaire". Le dextrane utilisé pour celà appartient à la série des SEPHADEX. Jusqu'en 1968, à l'exception des travaux de CONTRACTOR (1966), qui a utilisé du SEPHADEX G10, non pas en filtration moléculaire, mais en absorption sélective pour le 5-hydroxyindoleacétique, le gel de SEPHADEX n'a pas été utilisé en auxinologie. Ceci tient au fait que seules existaient les poudres de la série G utilisables exclusivement en solution aqueuse ou avec des solvants impropres à l'extraction des phytohormones (diméthylsulfoxide, glycol, formamide).

L'apparition, sur le marché, de la variété LH 20, pour solvants organiques nous a permis, en 1968-69, d'étendre l'utilisation du SEPHADEX à l'analyse des hormones végétales.

Huit composés indoliques (fournis par les Sociétés : FLUKA, SERLABO, SCHUCHARDT MUNCHEN) ont été utilisés (AUGIER 1970) en raison de leur importance et de leur rôle dans le métabolisme des auxines.

Les détails relatifs à la structure et aux propriétés du gel de dextranes, de même que ceux concernant la technique expérimentale figurent dans l'ouvrage de DETERMAN (1969). Précisons, toutefois, que la préparation du gel est réalisée à l'aide de méthanol. Le volume de gel peut être calculé à l'avance sachant qu'un gramme de poudre donne un volume approximatif de 4 à 4,5 ml de gel. Il est nécessaire de laisser la poudre de SEPHADEX gonfler pendant au moins 5 heures dans le méthanol avant son utilisation. La colonne utilisée, résistant aux solvants organiques, est du type PHARMACIA SR 25/45 ou SR 25/90 avec ses adaptateurs spéciaux et ses tamis en nylon permettant l'application automatique de l'échantillon. L'homogénéité du gel est vérifiée avant l'expérimentation par passage d'une solution colorée (DEXTRAN bleu 2000 de PHARMACIA). Le débit du méthanol, pendant l'élution, est assuré par une pompe péristaltique BUHLER. La colonne filtrante est couplée à un collecteur de fractions LKB type RADIRAC, à ondes carrées, qui permet le fractionnement par mesure de temps, comptage de gouttes ou siphonage.

Le comportement des composés indoliques dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX a d'abord été étudié sur une colonne de 45 cm de longueur, colonne qui n'a pas donné la séparation primitivement souhaitée. Ceci tient au fait que les poids moléculaires des substances à séparer sont voisins et que par conséquent, sur une colonne courte, on ne pouvait s'attendre qu'à des valeurs d'élution voisines également. Le fractionnement à l'aide d'une colonne de 90 cm de long donnait déjà des résultats intéressants mais il s'avérait cependant nécessaire d'augmenter encore la longueur de la colonne de gel en tenant compte, toutefois, d'une limite imposée par la résistance à l'écoulement. C'est avec des gels mous et compressibles comme le SEPHADEX que l'on se heurte à des difficultés dans l'utilisation de colonnes de plus d'un mètre (DETERMAN 1969).

Des essais ont alors été réalisés avec la technique du recyclage (PORATH et BENNICH 1962) dans laquelle, après un premier passage dans la colonne, l'éluat est réinjecté en tête de cette même colonne. Naturellement, les bandes s'élargissent à chaque passage et les premières fractions rejoignent les dernières (les pigments en particulier) lors de l'analyse des extraits méthanoliques d'algues.

Finalement l'allongement de la colonne de gel a été obtenu en connectant la sortie d'une colonne de 90 cm de long à la tête d'une colonne de 45 cm de long. Dans ces conditions et avec une charge de 50 γ/ 5 ml, un débit de 2,5 ml/mn et à la température ambiante, nous avons déterminé les volumes d'élution pour les composés indoliques étudiés (figure 2).

Ces diagrammes montrent que les huit composés indoliques se répartissent en trois "grandes fractions" (G.F.) distinctes :

G.F.1 = Tryptamine + AIP + AIA

G.F.2 = Tryptophane + IAE

G.F.3 = IA + IAN + IAM

Cependant, le temps d'élution, leur degré de séparation et leur étalement peuvent varier par modification des conditions expérimentales. Une étude particulière a été réalisée à ce sujet. Les expériences ont porté sur la longueur de la colonne, le débit de l'éluant, la charge (quantité et concentration de l'échantillon), le tassement du gel et la température.

L'étude de l'influence de la température sur le fractionnement a nécessité l'emploi d'une colonne de 45 cm de long, chemisée, de façon à faire circuler, dans le manchon ainsi réalisé, de l'eau à température constante. Quatre expériences ont été faites dans des conditions en tous points identiques (charge : 50 γ d'AIA / 5 ml ; longueur colonne : 45 cm, débit éluant : 2,5 ml/mn). Les résultats obtenus pour des températures successives de 10, 15, 30 et 40°C montrent que le fractionnement ne subit aucune variation notable entre 10 et 40°C et qu'il est inutile de travailler à température constante au laboratoire.

De même que la température, le débit n'a aucune influence notable sur le fractionnement dans la limite des conditions de nos expériences : 2 ml/mn, 6 ml/mn, 10 ml/mn avec l'AIA (20 γ / 5 ml) et IAE, IAN, IAM (50 γ / 5 ml), sur deux colonnes couplées de 90 et 45 cm de long.

La longueur de la colonne, par contre, modifie le volume d'élution comme le montrent les diagrammes d'élution de l'AIA, IAE, IAN, pour des filtrations réalisées respectivement avec des colonnes de 45 cm, 90 cm et deux colonnes couplées de 45 et 90 cm de longueur (figures 3 et 4).

Enfin la charge (quantité de produit appliqué) a peu d'importance jusqu'à 100 γ / ml, tandis qu'à 300 γ / ml et au-delà on assiste à un étalement plus important des fractions dû à une saturation du gel. Les travaux nécessitant le passage de grandes quantités d'auxines doivent donc être réalisés avec des colonnes de plus grande capacité.

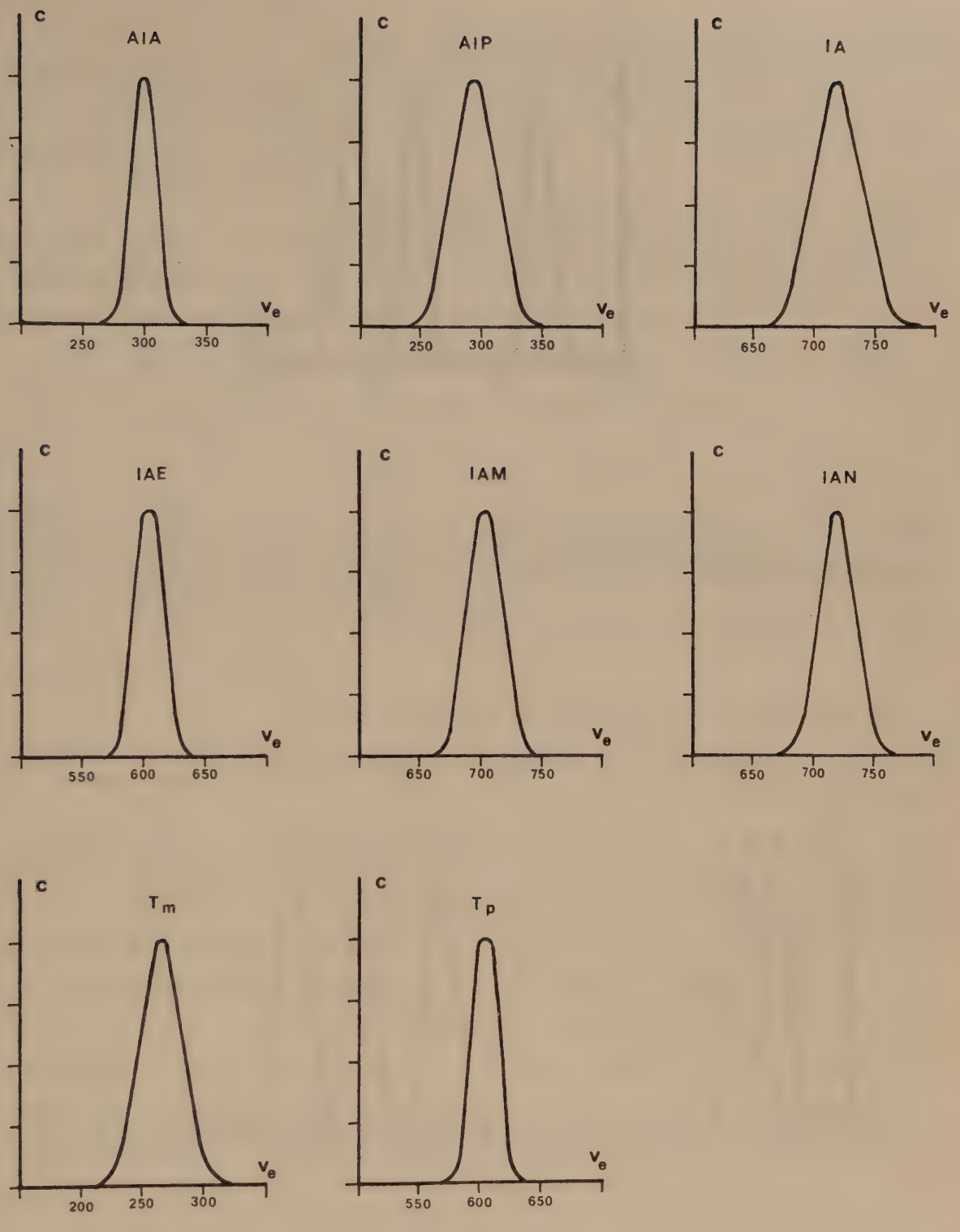


Figure 2 : Volume d'élution des composés indoliques dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 (en abscisses : volume d'élution en millilitres. En ordonnées : concentration relative pour une charge de 50 microgrammes de produit pour cinq millilitres de méthanol. Débit : 2,5 millilitres/minute. AIA = Acide indolyl-3-acétique, AIP = Acide indolyl-3-pyruvique, IA = Indolyl aldéhyde, IAE = Indolyl acétate d'éthyle, IAM = Indolyl acétamide, IAN = Indolyl acétonitrile, Tm = Tryptamine, Tp = Tryptophane).

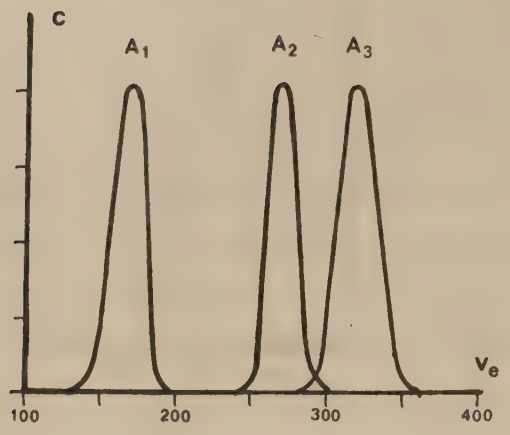


Figure 3 : Variation du volume d'élution de l'AIA dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 en fonction de la longueur de la colonne (colonne de 45 cm : A_1, 90 cm : A_2, 90 + 45 cm : A_3. Abscisses et ordonnées, voir fig. 2).

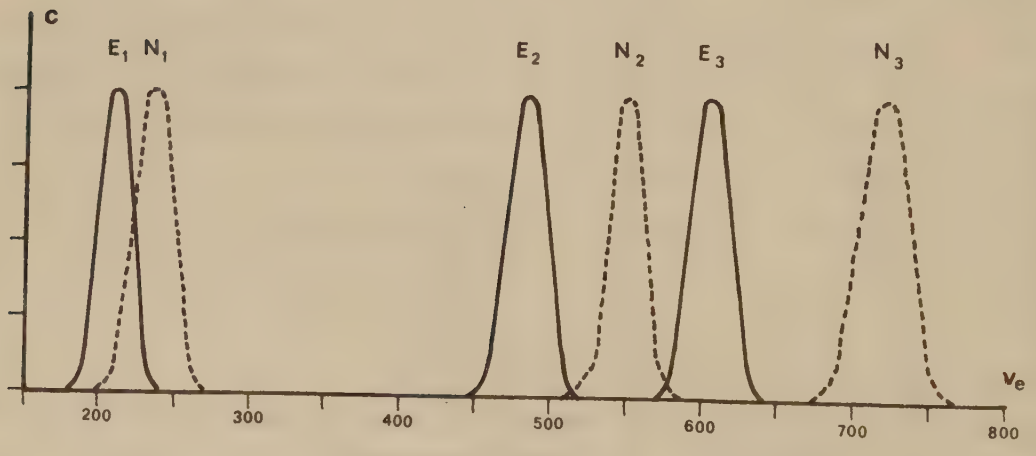


Figure 4 : Variation du volume d'élution de l'IAE et de l'IAN dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 en fonction de la longueur de la colonne (colonne de 45 cm : E_1 et N_1, 90 cm : E_2 et N_2, 90 + 45 cm : E_3 et N_3. Abscisses et ordonnées, voir fig. 2).

Notons aussi que le tassement du gel dû à un nombre trop élevé d'expériences sur la même colonne peut modifier de façon sensible le temps d'élution. Dans ce cas il suffit d'enlever le gel et de procéder à une nouvelle préparation de la colonne.

La filtration moléculaire de l'extrait brut va se faire en deux temps : filtration préliminaire permettant de purifier l'extrait ; filtration définitive, plus fine, conduisant à fractionner les composés indoliques contenus dans l'extrait d'algue selon la définition précédente.

La filtration préliminaire se fait en général à l'aide d'une colonne de 90 cm de longueur avec laquelle on sépare les trois "grandes fractions" suivantes :

- Fraction 1 qui correspond au temps d'écoulement de tous les composés indoliques,
- Fraction 2 qui correspond à toutes les autres substances susceptibles de sortir encore du gel,
- Fraction 3 qui représente les substances retenues par le gel, s'il en existe.

Après contrôle de sécurité, les fractions 2 et 3 sont éliminées si elles ne contiennent aucun facteur actif décelable.

Si nécessaire, le traitement par congélation aqueuse, précédemment décrit, peut être appliqué à la fraction 1 dans le cas où le volume d'élution des pigments restants est voisin de ceux des composés indoliques.

La perméation au méthanol est en général suffisante, cependant, lorsque l'extrait est trop chargé, il est possible d'employer d'autres solvants organiques tels que l'hexane ou l'éther sulfurique déperoxydé.

Cette filtration préliminaire élimine ainsi une grande quantité de substances ce qui permet d'avoir ensuite des conditions satisfaisantes pour la filtration moléculaire fine. Lorsque l'extrait brut n'est pas trop chargé en pigments ou en lipides ou lorsque la quantité de poudre traitées est faible, il est possible de supprimer cette phase de perméation préliminaire.

La filtration moléculaire définitive qui suit constitue la dernière étape du fractionnement avant la chromatographie. La conduite expérimentale est identique à celle décrite plus haut pour les composés indoliques de synthèse.

b) Chromatographie sur papier et sur couche mince.

Le type de chromatographie sur papier utilisé est une chromatographie de partage, ascendante, unidimentionnelle à un solvant (NITSCH

1955 et 56, NITSCH et NITSCH 1955) ou à deux solvants (NITSCH 1960 b). Nous ne nous étendrons pas sur la technique expérimentale initialement présentée par NITSCH. Précisons, toutefois, que les chromatogrammes (40 cm de long sur 2, 3 ou 4 cm de large) sont réalisés sur des feuilles de papier WHATMANN n° 3 MM et que les composés indoliques ou les fractions obtenues par perméation sont dissous dans du méthanol avant d'être déposés à l'aide d'une seringue. Le développement chromatographique réalisé après une équilibration de 12 heures, se fait avec le solvant isopropanol - eau - ammoniaque à 28 % (proportions : 80 - 19,98 - 0,02). Ce premier développement est complété de manière identique à l'aide d'un autre solvant : hexane - chloroforme - eau (proportions : 75 - 15 - 10) avec équilibration préalable de 6 heures. Le deuxième solvant refait le parcours du premier sans modifier l'emplacement des substances acides et entraîne les substances neutres jusqu'à une ligne de front située 5 cm au-dessus de celle du premier solvant. Nous avons déjà signalé (AUGIER 1965 b) le double avantage de l'utilisation de ce deuxième solvant. Il permet, en premier lieu, de séparer les substances neutres des substances acides en allégeant le front du premier solvant difficile à analyser du fait de l'empilement des substances à Rf élevé. Il permet, en second lieu, d'éliminer une grande partie des pigments qui migrent au front du deuxième solvant. Ce dernier avantage est important car l'empilement des pigments, non éliminés par la filtration moléculaire, au niveau du Rf des substances recherchées gênerait la réalisation des tests biochimiques de coloration.

Le type de chromatographie sur couche mince utilisé est une chromatographie ascendante, unidimentionnelle, sur gel de silice inspirée des travaux de STAHL (1962) et de COLLET et al. (1964). Des plaques de verre (10x10 cm ou 20x20 cm) sont recouvertes d'une couche de gel de silice G de 0,25 mm à 0,50 mm d'épaisseur à l'aide d'un appareil approprié (Chromatoset 3 D de PLEUGER ou 8 CR de QUICKFIT). Les composés indoliques ou les fractions recueillies au collecteur, dissous dans du méthanol, sont déposés sur la ligne de spot à l'aide d'une seringue. Les plaques sont placées dans des cuves contenant l'un des deux solvants suivants :

- C.A.A.E. : Chloroforme - Acide acétique - Ethanol (proportions : 94 - 5 - 1)

- A.M.I.A. : Acétate de méthyle - Isopropanol - Ammoniaque à 25 % (proportions : 45 - 35 - 20).

L'équilibration est réalisée à l'aide de papier WHATMANN placé contre les parois de la cuve et d'une plaque de silice imprégnée de solvant. La plaque sur laquelle est déposé l'extrait est placée parallèlement

à la plaque imbibée de solvant, silice contre silice, à un millimètre de distance ; ce montage permet d'éviter les inconvénients du "phénomène de bord" (STAHL 1962).

3°) Identification et dosage

a) Rf et volume d'élution.

La position des différentes substances sur les chromatogrammes est définie par le Rf (LEDERER et LEDERER 1957, STAHL 1962).

Le Rf de chaque composé indolique analysé est indiqué dans les tableaux 4 pour la chromatographie sur papier et 5 pour celle sur couche mince. Les valeurs données dans chacun de ces deux tableaux de référence sont assez voisines de celles indiquées par d'autres auteurs (NITSCH 1955 et 1956, STAHL 1962, COLLET et al. 1964).

Comme nous l'avons précisé ailleurs (AUGIER 1970), l'utilisation conjointe des résultats obtenus par la filtration moléculaire et la chromatographie permet d'individualiser nettement les substances étudiées. Les diagrammes dans lesquels sont portés, en abscisse, le volume d'élution dans la filtration moléculaire et en ordonnée le Rf en chromatographie sur papier (figure 5) ou sur couche mince (figures 6 et 7) font clairement apparaître cette individualisation. La première grande fraction d'élution contient l'AIA, l'AIP et la tryptamine. La tryptamine est nettement séparée des deux autres produits quel que soit le type de chromatographie choisi ; par contre la séparation de l'AIA et de l'AIP n'est réalisable qu'à l'aide du solvant C.A.A.E. dans la chromatographie sur couche mince. En ce qui concerne la deuxième grande fraction n'importe quelle méthode de chromatographie permet de séparer nettement le tryptophane de l'IAE. Enfin la troisième grande fraction contient l'IA, l'IAM et l'IAN dans les trois techniques ; seule la chromatographie sur couche mince avec le solvant C.A.A.E. permet de séparer nettement l'IA de l'IAN.

b) Tests biochimiques.

La révélation des chromatogrammes est réalisée à l'aide de réactifs biochimiques vaporisés sur les chromatogrammes. Les réactifs suivants ont été utilisés :

Réactif de SALKOWSKI modifié par PILET (1957) pour la chromatographie sur couches minces :

- 3 ml solution à 1,5 M de perchlorure de fer
- 60 ml d'acide sulfurique
- 100 ml d'eau bidistillée

(La révélation est activée par chauffage à 60-80°C pendant quelques minutes)

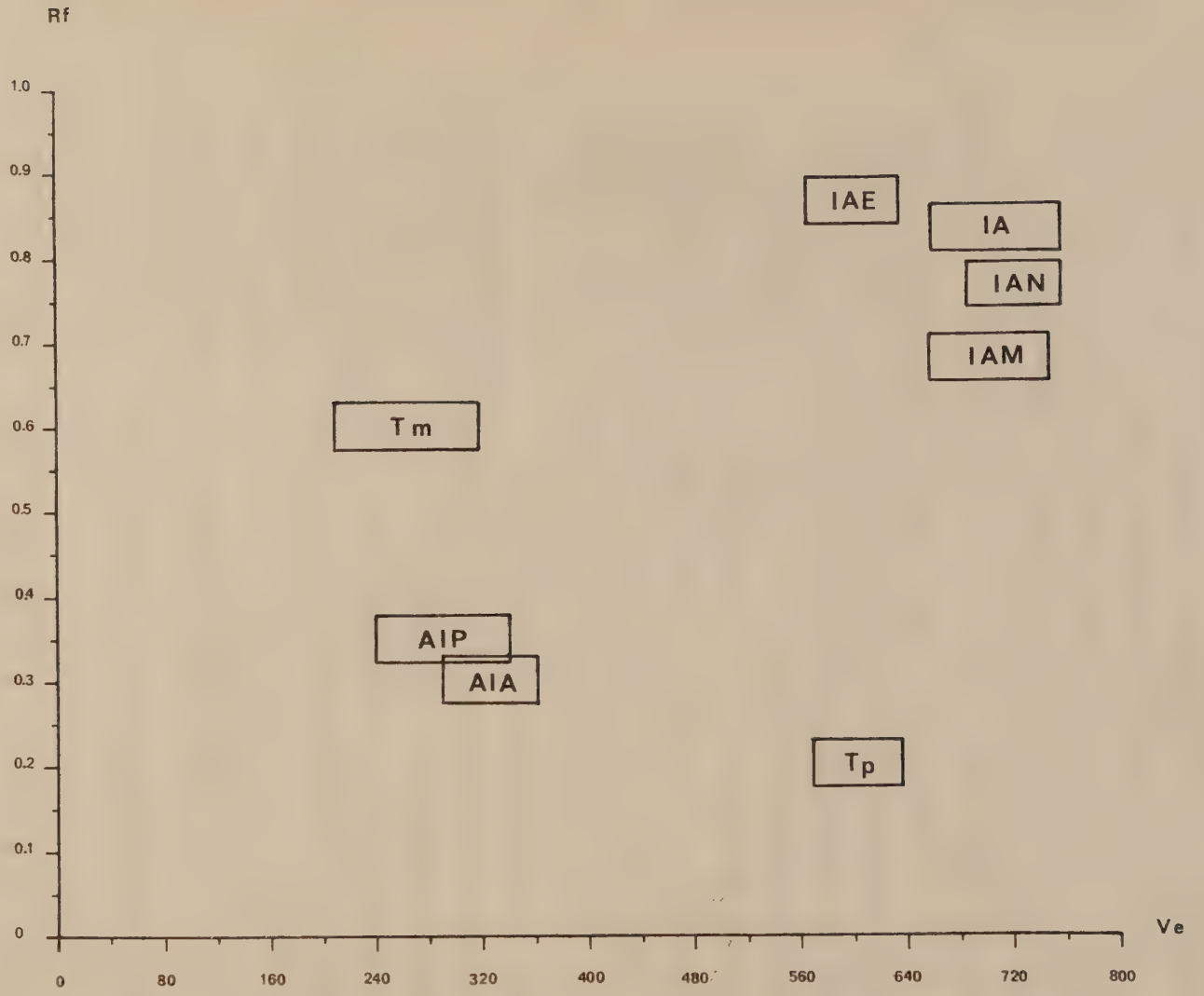


Figure 5 : Diagramme d'isolement et de caractérisation des composés indoliques d'après les résultats obtenus par la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 et par la chromatographie sur papier, solvant : isopropanol - eau - ammoniaque à 28 % (Ve = Volume d'élution en millilitres. Charge 40 microgrammes/ml).

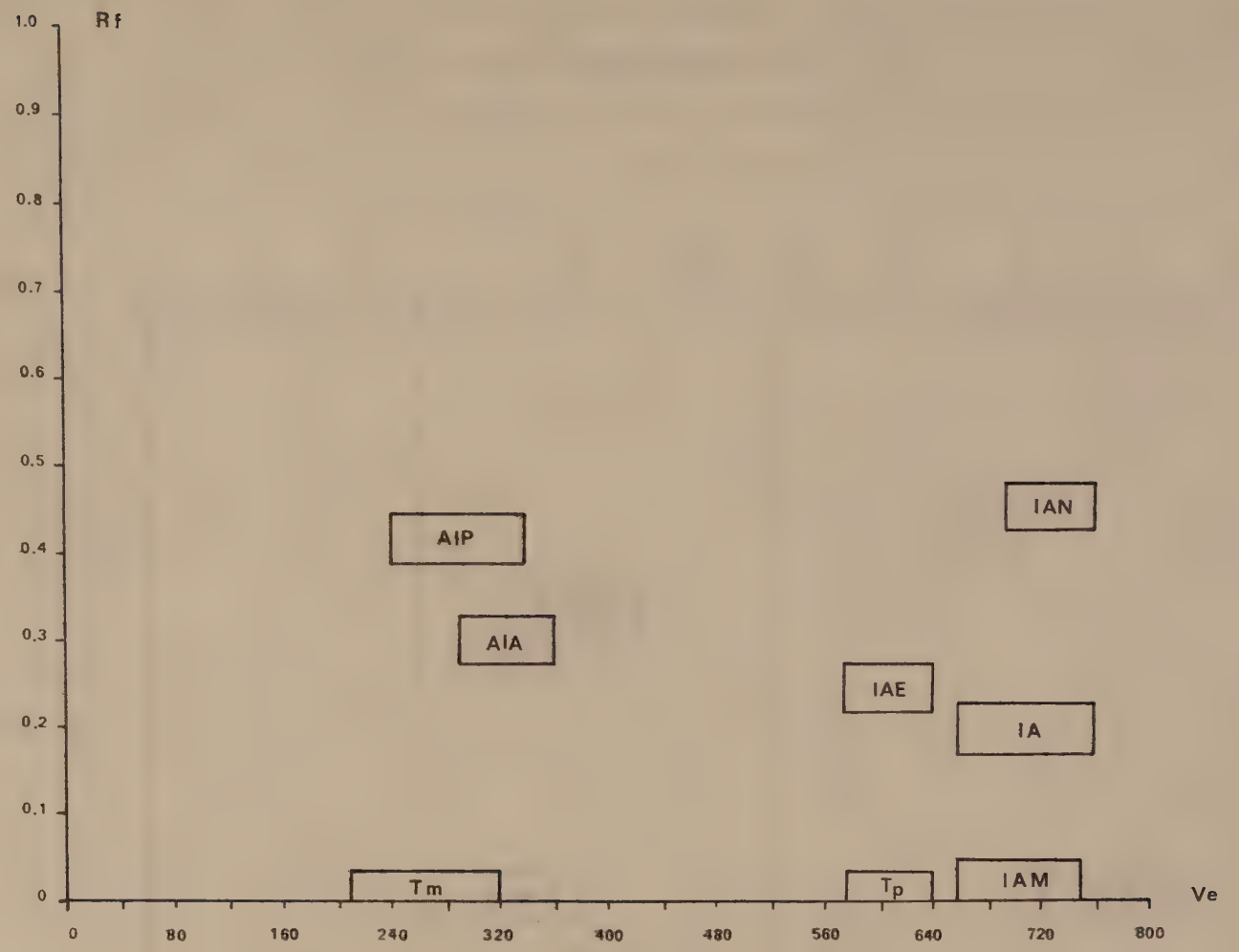


Figure 6 : Diagramme d'isolement et de caractérisation des composés indoliques d'après les résultats obtenus par la filtration moléculaire et la chromatographie sur couche mince (Solvant chloroforme - acide acétique - éthanol. Même légende que figure 5).

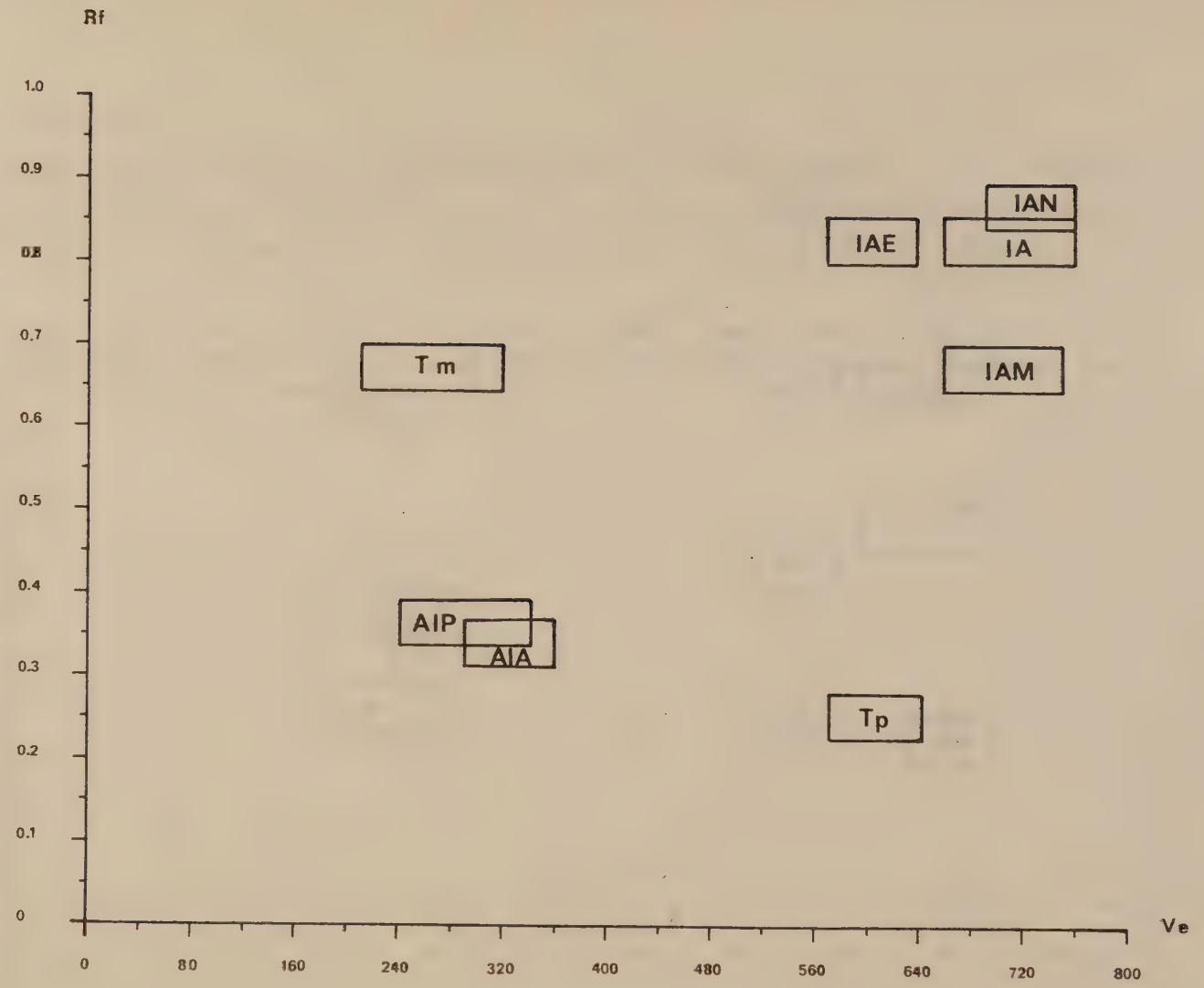


Figure 7 : Diagramme d'isolement et de caractérisation des composés indoliques d'après les résultats obtenus par la filtration moléculaire et la chromatographie sur couche mince (Solvant acétate de méthyle - isopropanol - ammoniaque. Même légende que figure 5).

TABLEAU 4

Caractéristiques chromatographiques (Rf. et colorations aux tests biochimiques) des composés indoliques dans la chromatographie sur papier (U.V. = lumière ultra-violette).

Composés indoliques	Rf.	Réactifs biochimiques		
		GORDON WEBER	PROCHAZKA	
			Sans U.V.	Avec U.V.
Acide indolyl-3-acétique (AIA)	0,30	Rose	Jaune très pâle	Jaune vif
Acide indolyl-3-pyruvique (AIP)	0,35	Vieux rose	Rose pâle	Orangé à blanc bleuté
β-indolyl-aldéhyde (IA)	0,83	Rose brun (long à apparaître)	Orangé très pâle	Rouge orangé
β-indolyl-acétate d'éthyle (IAE)	0,87	Violet à violet gris	-	Orangé clair
β-indolyl-acétamide (IAM)	0,68	Violet pourpre	Blanc jaunâtre très pâle	Blanc jaunâtre vif à 366 nm et gris rougeâtre à 254 nm
β-indolyl-acétonitrile (IAN)	0,80	Bleu	-	Violet orangé clair
Tryptamine (Tm)	0,60	Orangé	Orangé très pâle	Orangé
Tryptophane (Tp)	0,21	Jaune orangé	Orangé très pâle	Jaune orangé à 366 nm Orangé mauve à 254 nm

TABLEAU 5

Caractéristiques chromatographiques (Rf. et colorations aux tests biochimiques) des composés indoliques dans la chromatographie sur couche mince de silice en présence de deux solvants (CAAE = solvant chloroforme - Acide Acétique - Ethanol ; AMIA = Acétate de Méthyle - Isopropanol - Ammoniaque ; U.V. = lumière ultra-violette 254 nm ou 366 nm).

Composés indoliques	Rf.		Réactifs biochimiques			
	CAAE	AMIA	SALKOWSKI	VAN URK	PROCHAZKA	
					Sans U.V.	Avec U.V.
Acide indolyl-3-acétique (AIA)	0,30	0,33	Rose violacé	Rose violacé	Jaune très pâle	Bleu foncé
Acide indolyl-3-pyruvique (AIP)	0,42	0,36	Jaune orangé	Bleu grisâtre	Jaune brun pâle	Jaune orangé pâle
β-indolyl-aldéhyde (IA)	0,20	0,82	Rose pâle	Rose pâle	Rose mauve pâle	Rose orangé
β-indolyl-acétate d'éthyle (IAE)	0,25	0,82	Mauve	Violet grisâtre	Jaune orangé pâle	Jaune orangé
β-indolyl-acétamide (IAM)	0,02	0,70	Mauve	Bleu	Jaune verdâtre	Brun clair
β-indolyl-acétonitrile (IAN)	0,45	0,86	Bleu clair	Bleu grisâtre	Grège	Jaune verdâtre
Tryptamine (Tm)	0,00	0,67	Gris bleu vert	Bleu grisâtre	Jaune pâle	Jaune orangé
Tryptophane (Tp)	0,00	0,25	Orangé grisâtre	Bleu grisâtre	Jaune pâle	Jaune

Réactif de GORDON WEBER (1951) pour la chromatographie sur papier :

- 270 mg de perchlorure de fer
- 50 ml d'acide perchlorique à 70 %
- 50 ml d'eau bidistillée
- 100 ml d'éthanol à 95 %

(La révélation est activée par un courant d'air chaud 50-60°C)

Réactif de VAN URK donné par STAHL (1962) pour la chromatographie sur couche mince :

- 1 g de diméthylaminobenzaldéhyde
- 50 ml d'acide chlorhydrique à 25 %
- 50 ml d'éthanol à 95 %

Réactif de PROCHAZKA donné par STAHL (1962) :

- 10 ml de formaldéhyde à 35 %
- 10 ml d'acide chlorhydrique à 25 %
- 20 ml d'éthanol à 95 %

(Les chromatogrammes sur couche mince ou sur papier sont chauffés pendant 5 minutes à une température voisine de 100°C. Pour la bande de papier, une soufflerie d'air chaud est préférable à l'étuve où le chromatogramme peut brûler. On note les teintes obtenues en lumière naturelle puis aux ultra-violets (254 nm et 366 nm).

Les teintes de référence obtenues avec les composés indoliques de synthèse sont présentées dans les tableaux 4 (chromatographie sur papier) et 5 (chromatographie sur couche mince).

A titre complémentaire nous avons utilisé quelquefois le test d'EHRLICH (Diméthylaminobenzaldéhyde 1 g + eau 7 ml + acide chlorhydrique 43 ml + éthanol 200 ml) et le test d'EHRLICH au nitrite (nitrite de sodium 1 g + eau 49 ml + éthanol 50 ml) donnés par STAHL (1962) ainsi que le test DMACA (Diméthylaminocinnamaldéhyde 2 g + eau 50 ml + acide chlorhydrique 50 ml + éthanol 100 ml), tests en général moins spécifiques et moins sensibles que les réactifs décrits ci-dessus.

c) Tests biologiques.

Le principe des tests biologiques est de mettre en contact, avec une solution auxinique aqueuse, des tissus très pauvres en hormones endogènes mais conservant un grand pouvoir de croissance ; la croissance des tissus indique la présence d'hormones et la mesure de leur taille en permet le dosage.

Notre choix s'est porté sur le test classique "mésocotyle d'avoine" de NITSCH (1956, 1958, 1960) nettement plus sensible que les tests "culture de tissus d'algues" à l'étude depuis plusieurs années. L'essai biologique

consiste à mesurer l'allongement des mésocotyles d'avoine, de la variété BRIGHTON, isolés et cultivés sur un milieu nutritif comprenant l'extrait actif qui diffuse à partir des portions de chromatogramme découpés en 25 fragments successifs. Les plantules d'avoine qui ont germé à l'obscurité sur un support à base de vermiculite VERMIOR GR3 sont découpées à l'aide d'une guillotine multiple de façon à obtenir des mésocotyles de 4 mm de longueur (AUGIER 1965 b). Les mésocotyles et les fragments de chromatogramme sont placés dans des tubes à culture (10 mésocotyles par tube) contenant 1 ml d'un milieu nutritif tamponné (120 ml d'eau, 15 ml de Tween à 1 %, 15 ml de solution tampon à pH 5*, 3 g de saccharose). Nous n'indiquons pas les détails de cette technique qui figurent dans les publications de NITSCH, mais nous précisons que les expériences ont été réalisées en chambre climatisée à la température constante de 24°C, avec une humidité relative de 80 %, les manipulations étant faites en lumière verte (550 nm environ).

Les résultats obtenus sont exprimés au moyen d'un histogramme portant en abscisse la valeur des Rf et en ordonnée l'activité de la substance considérée. Cette activité, exprimée en millimètres, représente l'élongation des segments de mésocotyle au-delà de la longueur des témoins. A chaque Rf correspond ainsi un "pic" situé, par rapport à la ligne des abscisses, soit du côté des valeurs positives (Activateurs), soit du côté des valeurs négatives (Inhibiteurs).

Le dosage quantitatif des auxines est réalisé par comparaison de croissance avec une gamme connue d'AIA ou d'un autre composé indolique (1, 3, 10, 30, 100 microgrammes par litre). Ce procédé est plus précis que celui qui consiste à se référer à une courbe étalon générale issue d'un grand nombre d'expériences parce que les mésocotyles proviennent du même lot de caryopses et ont été soumis aux mêmes conditions de culture. On trouvera dans le travail d'HARADA (1962) une estimation statistique justifiant la valeur de la méthode employée.

Le test de NITSCH est actuellement le test biologique le plus sensible pour révéler les hormones indoliques mais il n'est malheureusement pas exclusivement spécifique de ces substances puisque les gibbérellines accélèrent également la croissance du mésocotyle. Il convient donc de l'utiliser comme test de base et de le compléter ensuite par les indications données par les Rf et les volumes d'élution ainsi que par les tests spécifiques des gibbérellines.

---

* La solution tampon est constituée de : 100 ml d'eau, 1,019 g d'acide citrique, 1,794 g de phosphate bipotassique.

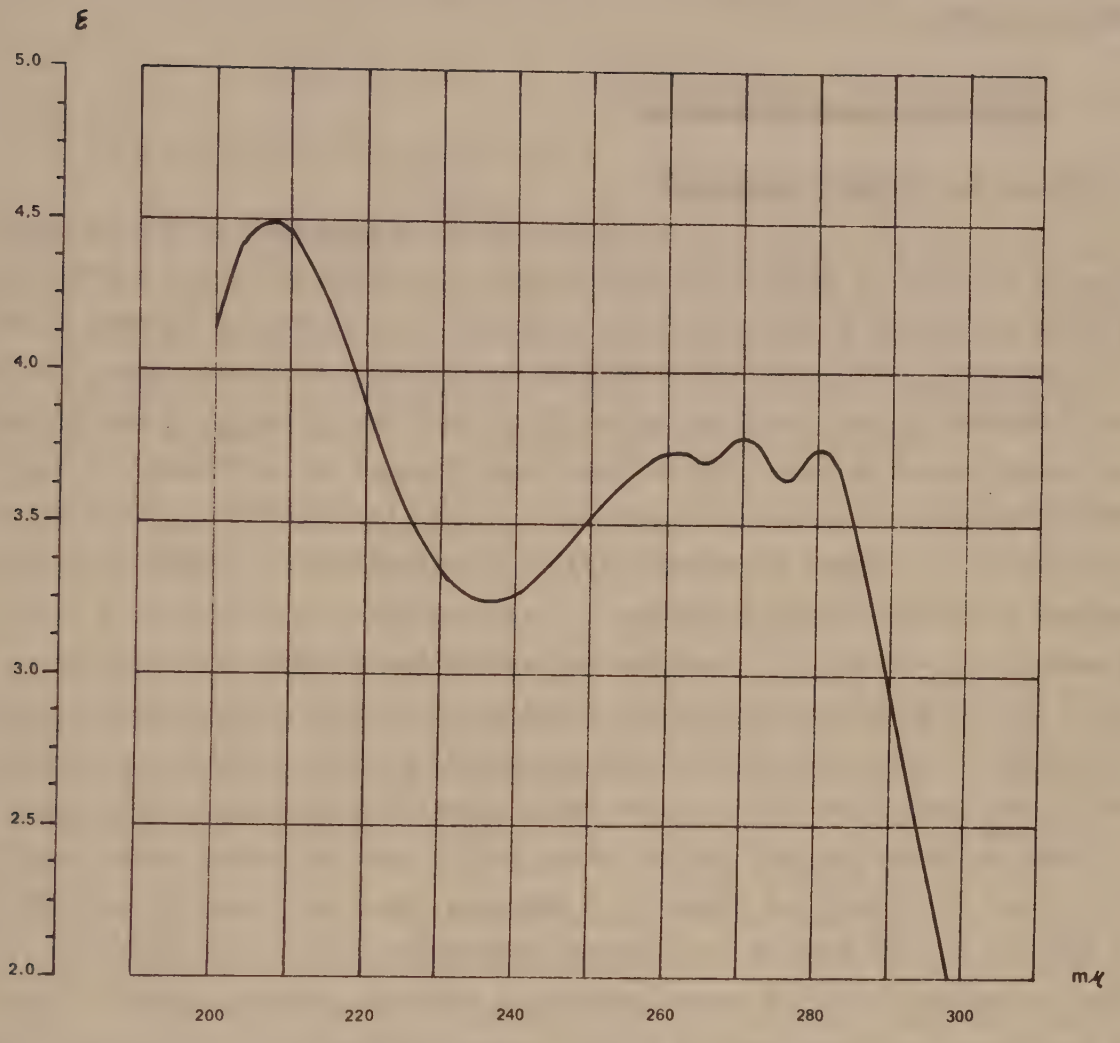


Figure 8 : Spectre d'absorption de l'acide indolyl-3-acétique dissous dans l'éthanol (d'après FRIEDEL et ORCHIN 1951).

d) Spectre d'absorption.

Dans quelque cas nous avons également examiné les substances isolées au spectrophotomètre JOBIN et YVON. Les spectres d'absorption dans l'ultra-violet peuvent en effet fournir de précieux renseignements pour l'identification des auxines. Ce procédé a surtout été utilisé pour l'AIA dont le spectre (figure 8) présente trois pics d'absorption caractéristiques à 220 nm, 280 nm et 289 nm.

IV. - RECHERCHE DES GIBBERELLINES

1°) Prise aux solvants sélectifs

La poudre sèche, obtenue par lyophilisation, est mise en suspension, pendant 48 heures, dans du méthanol à 3°C. L'ensemble est ensuite centrifugé à 5000 tours/minute pendant cinq minutes. La phase méthanol est recueillie et le culot de centrifugation traité à nouveau. L'opération est ainsi répétée quatre fois à raison de 50 ml de méthanol pour 1 gramme de poudre. Le dernier culot de centrifugation est alors éliminé et le méthanol évaporé au ROTAVAPOR BUCHI. L'extrait méthanolique sec est placé pendant une nuit au réfrigérateur avec de l'éther de pétrole (EP). Une centrifugation à 6000 tours/minute pendant 6 minutes permet de séparer la fraction éther de pétrole n° 1 (EP1) de l'extrait. La fraction EP1 comprend une partie des lipides qui encombrent l'extrait alors que les gibbérellines restent normalement dans le culot de centrifugation. Un contrôle de sécurité par test biologique est cependant réalisé pour chaque extrait. Une lyophilisation de courte durée permet d'obtenir un extrait sec à partir du culot de centrifugation qui est alors traité avec un tampon aqueux à pH 8 et de l'éther de pétrole. Le tampon pH 8 comprend, pour dix litres d'eau, 600 grammes de potasse et 1390 grammes de phosphate monopotassique. La séparation de la phase éther de pétrole et de la phase aqueuse est réalisée dans une ampoule à décanter. La fraction éther de pétrole n° 2 (EP2) permet d'éliminer une partie des chlorophylles qui se répartissent ordinairement en deux portions, l'une dissoute dans l'éther de pétrole, l'autre concentrée à sa surface. Une filtration sur papier séparateur de phase WHATMANN permet d'isoler l'extrait aqueux à pH 8 de la fraction EP2, elle-même filtrée sur papier WHATMANN n° 40. La phase aqueuse à pH 8 est ajustée à pH 3 par l'acide chlorhydrique 0,5 N et mélangée à de l'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter que l'on agite pendant 15 minutes. L'opération est répétée trois fois puis l'acétate d'éthyle est évaporé pour obtenir l'extrait sec acétate d'éthyle (AE). La même opération est réalisée sur la phase aqueuse à pH 3 avec du butanol-1, jusqu'à l'obtention de l'extrait sec butanolique (nB). Si les extraits EP1, EP2, AE et nB sont encore trop chargés en pigments, il

convient de leur faire subir le traitement de congélation-décongélation précédemment décrit et utilisé à l'origine par HARADA (1962) et, si nécessaire, la technique d'épuration par chromatographie bidimentionnelle à l'eau (BENTLEY 1963). Les extraits EP2, AE et nB sont alors traités par la méthode de filtration moléculaire sur gel de dextranes permettant d'obtenir pour la chromatographie des fractions d'une grande pureté. L'ensemble des opérations décrites est résumé dans le schéma ci-joint (figure 9).

2°) Filtration moléculaire et chromatographie

L'étude du comportement des gibbérellines GA_1, GA_3, GA_4, GA_5, GA_6, GA_7, GA_8 et GA_9* dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 a été réalisée à l'aide de deux colonnes couplées de 90 et 45 cm de longueur dans des conditions expérimentales identiques à celles utilisées pour l'étude des composés indoliques. Les volumes d'élution obtenus (figure 10) montrent que les 8 gibbérellines se répartissent en 4 "grandes fractions" distinctes :

GF1 = GA_9

GF2 = GA_6

GF3 = GA_3 et GA_8

GF4 = GA_1, GA_4, GA_5 et GA_7

Des expériences similaires à celles réalisées pour les composés indoliques ont montré également que le temps d'élution, le degré de séparation des fractions et leur étalement varient en fonction de la longueur totale des colonnes, de la charge (au-delà de 300 microgrammes/ml) et du tassement trop élevé du gel. Par contre, la température du gel et le débit de l'éluant n'ont pas d'influence notable. La filtration moléculaire permet, dans le cas des gibbérellines comme dans celui des composés indoliques, non seulement d'opérer un "tri" préliminaire en répartissant les gibbérellines dans de "grandes fractions", mais également d'éliminer de nombreuses substances indésirables dans les extraits naturels.

La chromatographie sur papier, identique à celle ayant servi à la séparation des composés indoliques (NITSCH 1955 et 1956) a permis de déterminer le Rf des gibbérellines de référence avec le solvant isopropanol - eau (Tableau 6). J'ai utilisé, encore, dans certains cas, d'autres solvants de chromatographie (Tableau 6) mentionnés par MACMILLAN et al. (1961).

---

* Il m'est agréable de remercier, ici, bien vivement, le Dr. ELSON de l'IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED qui m'a procuré gracieusement les gibbérellines GA_1, GA_3, GA_4, GA_5, GA_7 et GA_9 ainsi que Madame NITSCH du Laboratoire de Physiologie pluricellulaire de Gif qui m'a aimablement fourni les gibbérellines GA_6 et GA_8. Il m'a été malheureusement impossible, jusqu'ici, d'acquérir la gibbérelline GA_2.

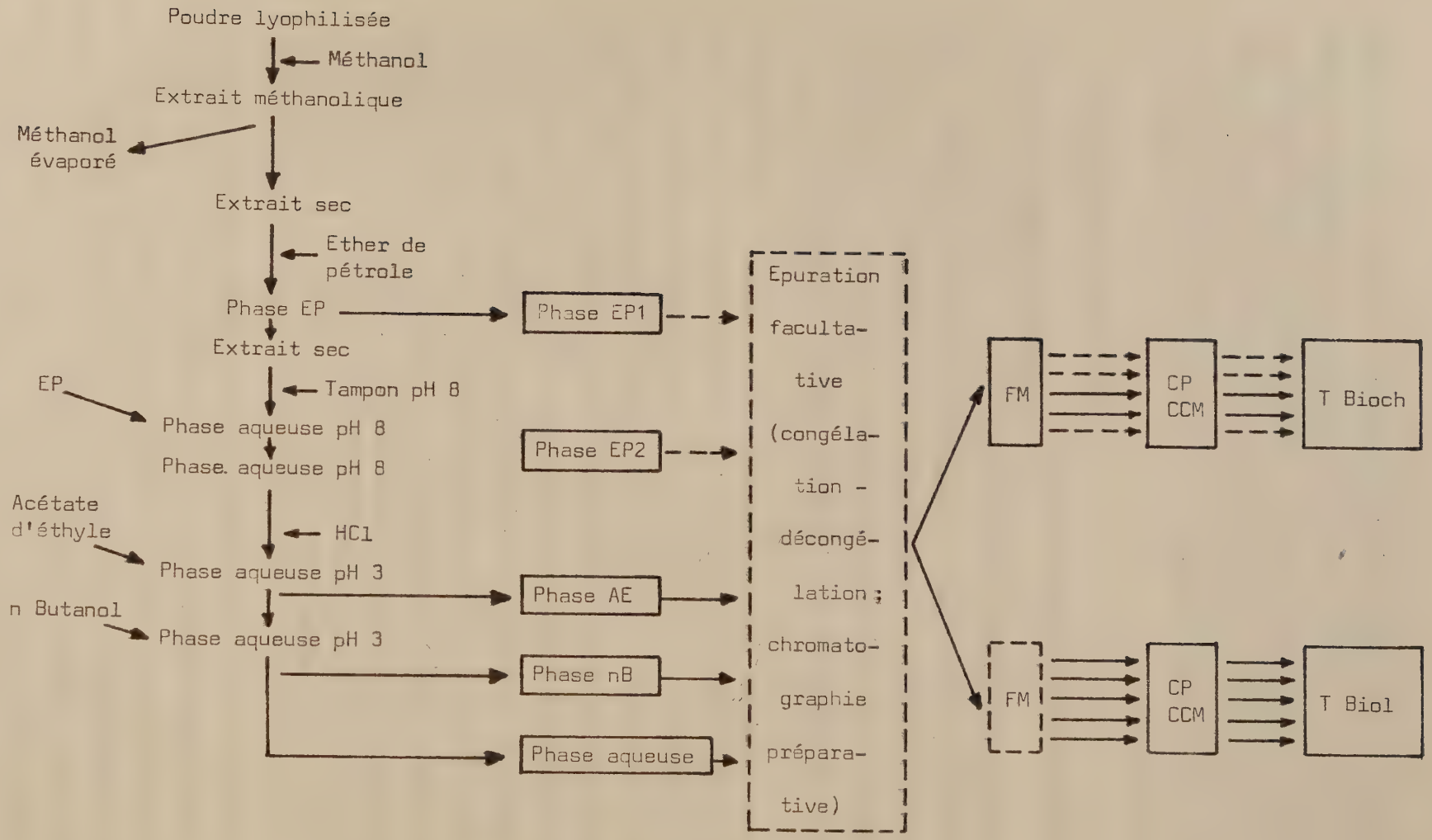


Figure 9 : Schéma de la méthode générale d'extraction des gibbérellines naturelles des algues.

(FM = filtration moléculaire, CP = chromatographie sur papier, CCM = chromatographie sur couche mince, T = tests, Bioch = biochimiques, Biol = biologiques, en pointillés : traitements facultatifs).

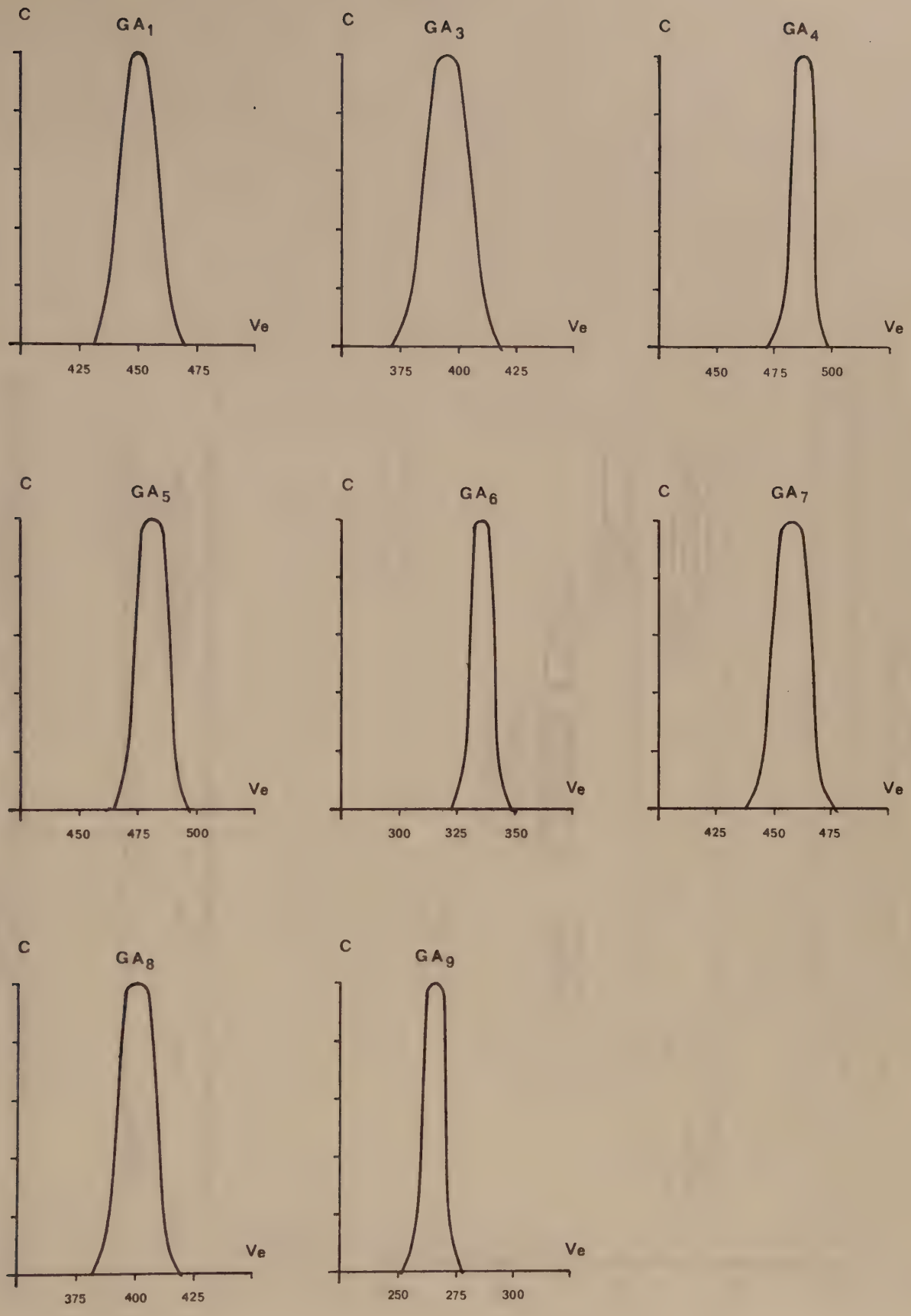


Figure 10 : Volume d'élution des gibbérellines (Ve = Volume d'élution en ml, C = Concentration relative pour une charge de 50 microgrammes de gibbérelline pour 5 ml de méthanol. Débit : 2,5 ml/mn).

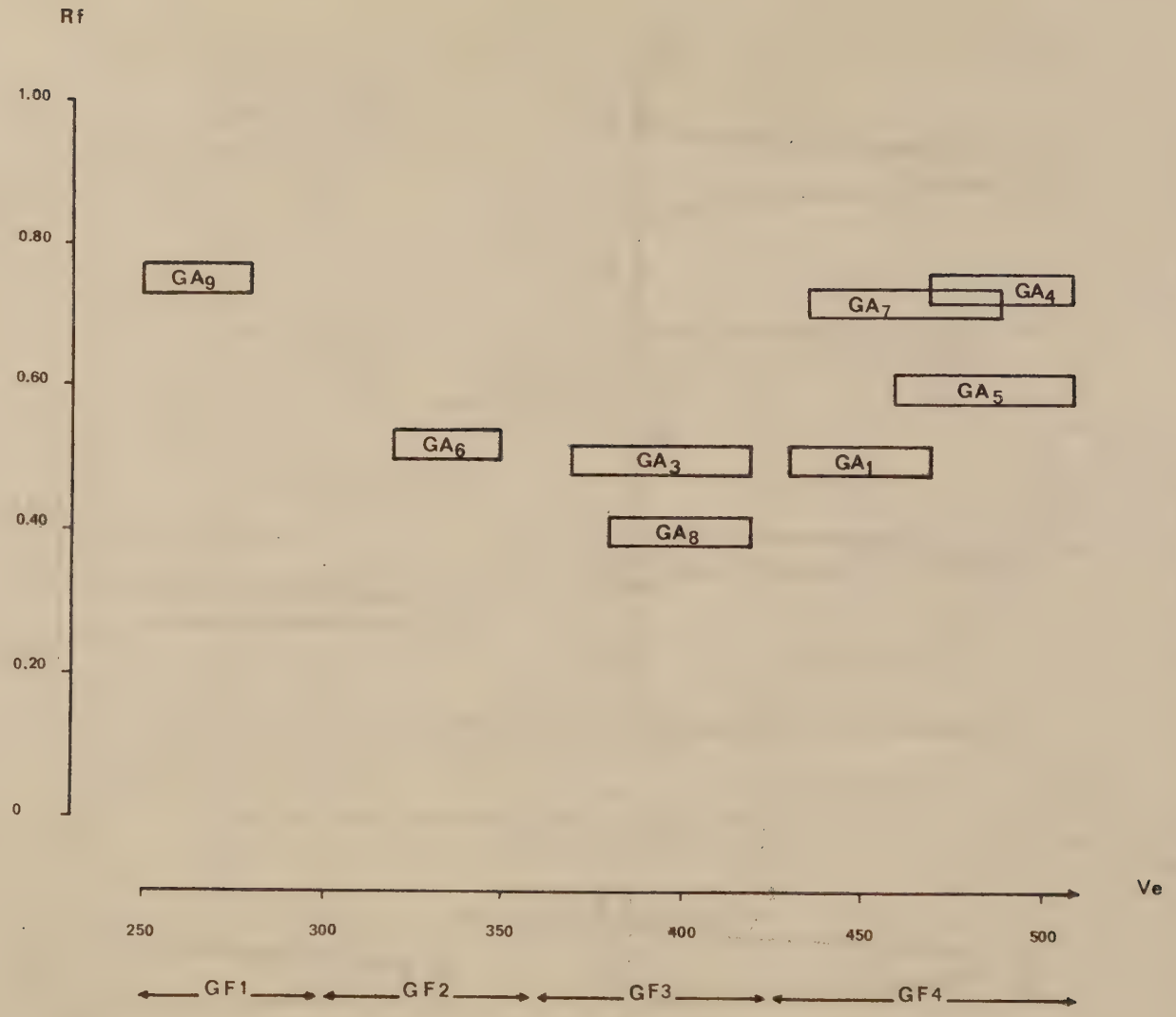


Figure 11 : Diagramme d'isolement et de caractérisation des gibbérellines GA_1 et GA_3 à GA_9 d'après les résultats obtenus par la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 et par la chromatographie sur papier (Ve = Volume d'élution en ml, Solvant = isopropanol (4) / eau (1), charge 50 microgrammes/ml).

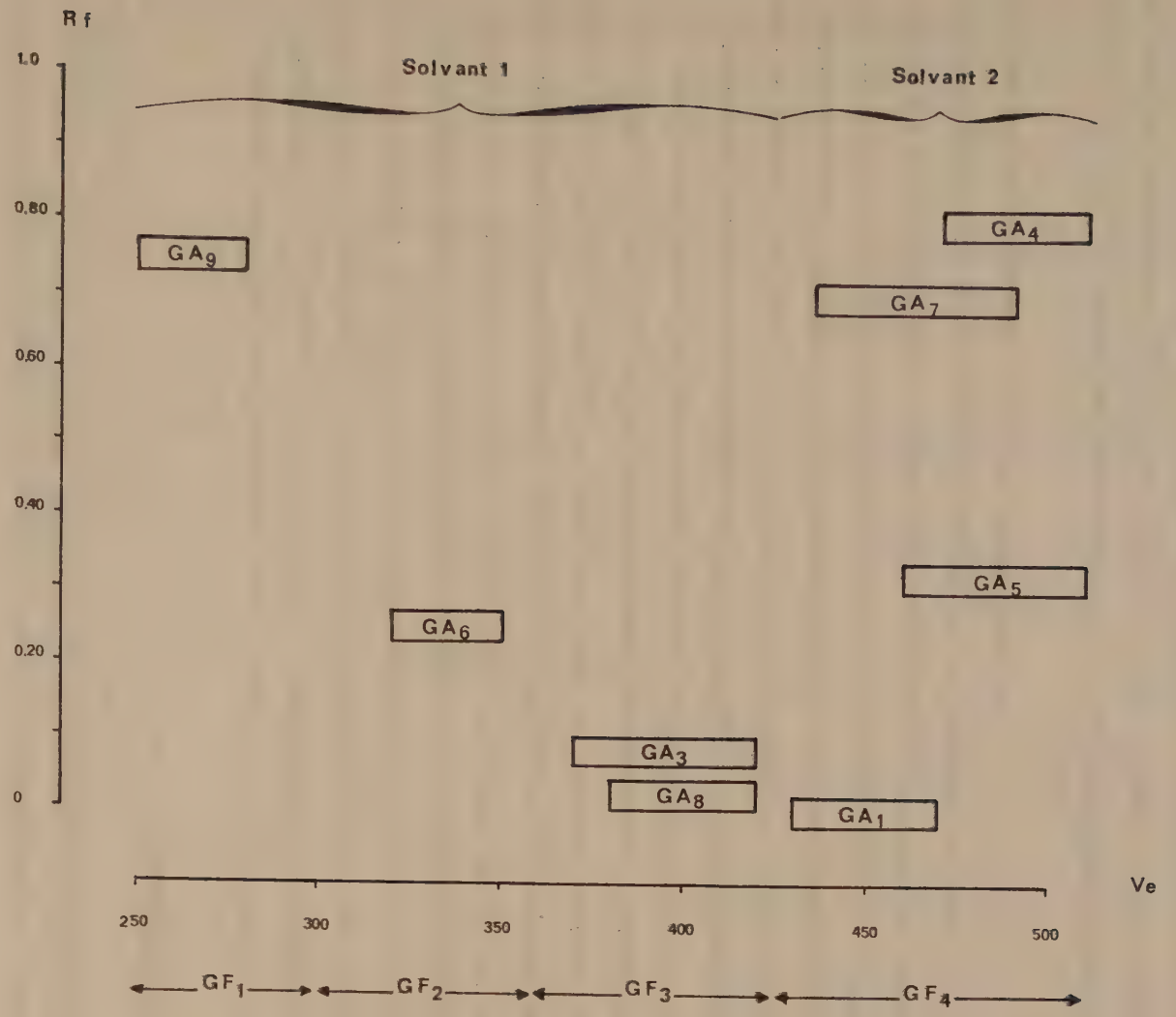


Figure 12 : Diagramme d'isolement et de caractérisation des gibbérellines GA_1 et GA_3 à GA_9 d'après les résultats obtenus par la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 et par la chromatographie sur couche mince (Ve = Volume d'élution en ml, Solvant 1 = oxyde d'isopropyle (95) / acide acétique (5), Solvant 2 = benzène (8) / acide acétique (3) / eau (5).

J'ai eu recours également à la chromatographie sur couche mince de gel de silice G de MERCK (MACMILLAN et al. 1963, CAVELL et al. 1967). Les Rf obtenus avec deux types différents de solvants (oxyde d'isopropyle - acide acétique et benzène - acide acétique - eau) ont été consignés dans le tableau 7. Ces Rf sont quelquefois différents de ceux obtenus par MACMILLAN et al. (1963) ou CAVELL et al. (1967) ; ces derniers précisent d'ailleurs à ce sujet : "The Rf values are not reproducible and cannot be standardized in terms of reference compounds". Ces différences proviennent probablement d'une part des variations dans l'épaisseur de la couche, dans la texture et dans la composition des gels de silice employés, d'autre part de la quantité d'eau par rapport à celle de l'acide acétique.

Les diagrammes portant en abscisses le volume d'élution dans la filtration moléculaire sur gel de dextrane et en ordonnées le Rf en chromatographie sur papier (figure 11) ou sur couche mince (figure 12) font clairement apparaître l'individualisation des gibbérellines étudiées par l'utilisation conjointe de ces deux procédés de fractionnement. En chromatographie sur papier (figure 11) aucun des solvants utilisés (tableau 6) n'a cependant permis de séparer les gibbérellines GA_4 et GA_7 de la grande fraction GF4 ; il est néanmoins possible de les distinguer par les teintes différentes qu'elles donnent avec les réactifs biochimiques (tableau 8). Dans le cas où GA_4 et GA_7 seraient présents dans le même extrait naturel, on peut cependant les séparer en ajoutant une colonne supplémentaire de 90 cm de longueur aux deux autres colonnes normalement utilisées : à la sortie des colonnes, GF4 est alors subdivisée en GF4a contenant GA_1 et GA_7 et GF4b renfermant GA_4 et GA_5. En ce qui concerne la chromatographie sur couche mince (figure 12), les gibbérellines contenues dans les grandes fractions GF1, GF2 et GF3 sont bien séparées par l'utilisation du solvant 1 (oxyde d'isopropyle - acide acétique), par contre, seul le solvant 2 (benzène - acide acétique - eau) permet de séparer les 4 gibbérellines contenues dans la grande fraction GF4.

3°) Tests biochimiques

Les tests utilisés consistent à vaporiser, sur les chromatogrammes, un révélateur qui provoque la fluorescence en ultra-violet des gibbérellines (longueur d'onde : 254 nm et 366 nm). Le révélateur principalement utilisé dans ce travail est un mélange de méthanol et d'acide sulfurique (tableau 8). Après évaporation et avant examen en ultra-violet, le chromatogramme sur papier doit être porté à la température de 55°C dans un courant d'air chaud pendant 5 à 30 minutes et le chromatogramme sur couche mince à 110°C, dans l'étuve, pendant

Solvants (V/V) / Gibbérellines	(1) Isopropanol/ eau (4/1)	(2) n Butanol/ ammoniaque 1,5N (3/1)	(3) Isopropanol/ ammoniaque 7N (5/1)	(4) n Butanol/alcool amylique tertiaire/ acétone/ammoniaque/eau (5/5/5/2/3)
GA_1	0,50 (0,52)	0,31	0,49	0,40
GA_2	(0,77)	0,725	0,78	0,65
GA_3	0,50 (0,50)	0,29	0,48	0,40
GA_4	0,74 (0,72)	0,60	0,72	0,57
GA_5	0,60 (0,59)	0,45	0,56	0,49
GA_6	0,52 (0,51)	0,33	0,51	0,42
GA_7	0,72 (0,71)	0,61	0,71	0,57
GA_8	0,40 (0,40)	0,15	0,35	0,25
GA_9	0,75	-	-	-
Références bibliographiques	AUGIER (résultats personnels) Entre parenthèses valeurs données par MACMILLAN et al. 1961	MACMILLAN et al. 1961		

Tableau 6 : Rf des gibbérellines GA_1 à GA_9 en chromatographie sur papier avec différents solvants de développement (1 et 3 = chromatographie ascendante, 2 et 4 = chromatographie descendante).

Solvants (V/V)	Oxyde d'isopropyle/acide acétique (95/5)			Benzène/acide acétique/eau (8/3/5)		
Gibbérellines						
GA_1	0,09	0,11	0,06	0,00	0,00	0,00
GA_2		0,04	0,01		0,00	0,00
GA_3	0,09	0,11	0,06	0,00	0,00	0,00
GA_4	0,29	0,37	0,20	0,80	0,82	0,69
GA_5	0,27	0,31	0,16	0,32	0,35	0,29
GA_6	0,25	0,25	0,13	0,21	0,21	0,16
GA_7	0,29	0,37	0,19	0,70	0,70	0,60
GA_8	0,02	0,04	0,01	0,00	0,00	0,00
GA_9	0,75	0,75	0,59	1,00	1,00	1,00
GA_{10}			0,06			0,36
GA_{11}			0,49			1,00
GA_{12}			0,67			1,00
GA_{13}			0,14			0,11
GA_{14}			0,26			0,75
GA_{15}			0,44			1,00
Références bibliographiques	AUGIER (résultats personnels)	MACMILLAN et al. 1963	CAVELL et al. 1967	AUGIER (résultats personnels)	MACMILLAN et al. 1963	CAVELL et al. 1967

Tableau 7 : Rf des gibbérellines GA_1 à GA_{15} en chromatographie sur couche mince de gel de silice G avec deux types différents de solvants de développement.

3 à 60 minutes selon la gibbérelline considérée. En règle générale, ce sont surtout les chromatogrammes sur couche mince qui servent à révéler les gibbérellines par voie biochimique. J'ai utilisé également quelquefois les révélateurs suivants : éthanol/acide sulfurique (JONES et al. 1962, MACMILLAN et al. 1963) qui donne des résultats à peu près semblables à ceux obtenus avec le révélateur décrit plus haut, eau/acide sulfurique (MACMILLAN et al. 1963, Mc COMBS 1967), acide sulfurique concentré (KAGAWA et al. 1963).

Les fluorescences obtenues avec les gibbérellines de référence et à l'aide de ces 5 révélateurs sont consignées dans le tableau 8. Les fluorescences portées dans ce tableau doivent être interprétées avec prudence pour l'identification des gibbérellines contenues dans des extraits de plantes ; des teintes similaires peuvent, en effet, être obtenues avec d'autres produits présents dans les extraits. Néanmoins si la présence d'un activateur est décelée, dans plusieurs types de chromatographie, à un Rf caractéristique, à l'aide de plusieurs tests biologiques spécifiques et si l'on constate, à ce même Rf, des fluorescences caractéristiques à l'aide de plusieurs tests biochimiques, ces tests deviennent alors un moyen très précieux pour permettre l'identification de la gibbérelline considérée.

4°) Tests biologiques(1)

a) Test "germination de graines de laitue".

Les graines de laitue de la variété "Grand rapids" ont normalement besoin de lumière pour germer mais GA_3 peut provoquer leur germination à l'obscurité totale (KAHN et al. 1957, SKINNER et al. 1958, HABER et al. 1959, IKUMA et al. 1960). Dans ces conditions, la germination des graines de cette variété de laitue peut servir à détecter les gibbérellines du moins pour les premières observations car ce test est très rapide à réaliser.

Cent graines sont mises à germer dans des boîtes de pétri contenant 3 épaisseurs de papier filtre imbibé de la solution aqueuse à étudier. L'incubation dure 4 jours à l'obscurité totale et à 25°C dans une atmosphère saturée ; on détermine ensuite le pourcentage de germination. Si les graines sont récentes, le taux de germination est d'environ 10 à 15 % à l'obscurité ; lorsqu'elles sont anciennes, elles ont tendance à germer en plus grande proportion (30 à 50 %). Pour réduire la germination autonome à l'obscurité, j'ai utilisé le

---

(1) On trouvera dans l'article de CROZIER et al. (1970) une étude sur la sensibilité de chaque test biologique aux différentes gibbérellines.

Réactifs	CH_3OH / H_2SO_4 (95/5) Etuve 110°C		C_2H_5OH/H_2SO_4 (95/5) Etuve 120°C	H_2O / H_2SO_4 (30/70) Etuve 120°C		H_2SO_4 Concentré Etuve 120°C
Gibbérellines	Sans UV	Avec UV	Avec UV	Avant étuve Avec UV	Après étuve Avec UV	10 minutes étuve Avec UV
GA_1	-	Bleu	Bleu	-	Bleu-vert	Bleu
GA_2	-	-	Violet	-	Bleu-violet	Bleu
GA_3	-	Bleu-vert très vif	Bleu	Vert-jaune	Bleu-vert	Bleu
GA_4	Gris clair	Violet terne	Violet	-	Bleu-violet	Brun
GA_5	-	Bleu	Bleu	-	Jaune-clair	Bleu
GA_6	-	Bleu	Bleu	-	Bleu-vert	Bleu
GA_7	Gris-vert	Jaune-vert	Violet (2) Jaune (1)	Vert-jaune	Brun	Vert
GA_8	-	Bleu	Bleu	-	Bleu-vert	Bleu
GA_9	-	Violet-terne	Violet	-	Violet-bleu	Violet
Sensibilité du test	0,01 microgramme		0,01 microgramme		0,01 microgramme	
Références bibliographiques	AUGIER (résultats personnels)		(1) JONES et al. 1962 (2) MACMILLAN et al. 1963	Mc COMBS 1967	MACMILLAN et al. 1963	KAGAWA et al. 1963

Tableau 8 : Tests biochimiques de référence des gibbérellines GA_1 à GA_9 (fluorescences aux ultra-violets).

procédé de prétraitement de NITSCH et NITSCH (1965). Les graines, semées sur papier filtre imbibé d'eau distillée, sont placées pendant 3 heures à une température de 25°C. Elles sont ensuite exposées à une lumière rouge sombre (720 à 800 nm) pendant 5 minutes puis séchées et enfin laissées à l'obscurité pendant un jour à 35°C. Des graines traitées par ce procédé ont été employées dans la plupart de mes expériences.

b) Test "maïs nain".

Grâce à PHINNEY (1956 et 1961) on dispose d'une gamme de mutants de maïs obtenue par croisement et dont le nanisme, sous la dépendance d'un seul gène, est supprimé par l'application de substances de type gibbérellique. Les caryopses possèdent soit le caractère "nain", soit le caractère "normal" en proportions définies par les lois de MENDEL sans qu'une distinction morphologique soit possible. On sème donc l'ensemble sur de la vermiculite VERMIOR GR3 arrosée d'eau distillée. Les cultures étant faites à une température de 27°C et sous une photopériode à égalité de jours et de nuits, il faut huit jours pour que la deuxième feuille commence à se dérouler. Le gène dont dépend le nanisme étant récessif, on obtient environ 75 % de plantules normales et 25 % de naines. Les plantules naines sont alors repiquées dans un autre bac de culture et la solution à étudier est déposée entre les limbes des deux premières feuilles à raison de 0,1 ml par plantule. Si le volume de l'extrait excède 0,1 ml, on répète l'opération plusieurs fois après évaporation du dernier dépôt. La solution de culture comprend pour 10 ml : 1 ml de Tween 80 à 1 % (polyoxyéthylène sorbitan monooléate) et 9 ml de solution à tester ou d'eau distillée s'il s'agit des témoins.

Les mesures sont réalisées huit jours après le dépôt des solutions ; elles consistent à noter l'allongement des gaînes de la première et de la deuxième feuille en les comparant aux valeurs initiales et à celles des témoins.

Le dosage est réalisé par comparaison avec une gamme témoin de la gibbérelline considérée : 3, 10, 30, 100, 300 microgrammes par litre.

Le test "maïs nain" est spécifique des gibbérellines (PHINNEY et WEST 1957, NITSCH et NITSCH 1962). Les auxines, aux doses habituelles présentes dans les tissus, sont sans effet sur ce test qui dévoile ainsi uniquement les substances dont les propriétés physiologiques sont celles des gibbérellines sans qu'il soit possible de déceler parfois si elles correspondent toujours aux gibbérellines actuellement connues.

c) Test "hypocotyle de laitue".

Il consiste à faire germer des graines de laitue de la variété "Grand Rapids" ou "Nuprime" et à mesurer la longueur de l'hypocotyle qui est proportionnelle à la concentration des gibbérellines placées dans la solution de culture (MAYER et al. 1959, FRANKLAND et WAREING 1960).

Les graines sont semées dans une boîte de petri de 10 cm de diamètre au fond de laquelle sont disposés trois disques de papier filtre superposés arrosés de 6 ml d'eau distillée. La boîte de petri est recouverte d'une boîte plus grande pour réduire l'évaporation pendant la germination qui dure une journée à 24°C et avec 16 heures de jour et 8 heures de nuit.

Les graines germées sont transférées dans de petits cristallisoirs contenant 3 ml d'agar à 1 % et 1 ml de solution aqueuse contenant la substance à éprouver. Chaque cristallisoir contient 14 graines : lors des mesures, les deux hypocotyles les plus grands et les deux plus petits sont éliminés et les dix autres permettent de calculer la moyenne de croissance.

Les cristallisoirs sont rangés dans un grand bac saturé d'humidité par un papier filtre épais imbibé d'eau distillée. Le bac est placé en chambre climatique dans les conditions suivantes : atmosphère saturée, 24°C, éclairement 25000 lux, 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité par jour.

Les mesures sont réalisées au bout de 4 jours, à l'aide d'une loupe binoculaire. Le dosage se fait par comparaison avec une gamme connue de gibbérelline.

Le test est spécifique des gibbérellines. FRANKLAND et WAREING (1960) ont contrôlé cette spécificité en employant l'AIA, l'acide-2-naphthoxyacétique ainsi que les glucides qui n'ont aucune influence sur le test. BRIAN et al. (1964) l'ont démontré également en effectuant des essais avec l'AIA, le 2.4-D et la kinétine. Ils ont également constaté qu'aucune de ces substances ne perturbe l'action de GA_3 même à des concentrations inhibitrices. NITSCH et NITSCH (1965) ont démontré, de leur côté, que l'helminthosporol est sans effet sur ce test (alors que cette substance a une activité très faible sur le test "maïs nain") et que l'acide helminthosporique est actif à des concentrations 10000 fois plus fortes que celles de GA_3 qui produiraient le même allongement. Il s'agit donc d'un test très spécifique, simple et rapide et qui offre encore l'avantage de voir le produit à tester placé directement dans le milieu de culture.

d) Test "élongation de la feuille embryonnaire d'avoine".

L'élongation de la première feuille des Graminées

sous l'influence des gibbérellines est une propriété sur laquelle repose un groupe de méthodes de dosage de ces substances. RADLEY (1958) a proposé l'emploi du blé, VAN OVERBEEK et DOWING (1961) puis plus tard KENTZER et ROWICKA (1963) ont retenu l'avoine. Dans ce cas, la méthode est connue sous le nom d'"Avena leaf base section test". Elle met en jeu des sections de coléoptile comprenant le noeud et consiste à mesurer la longueur de la première feuille lorsque les fragments ont été immergés dans un milieu nutritif liquide renfermant la gibbérelline à doser. MONTUELLE et DEBRY (1966) et MONTUELLE et OCHIN (1967) ont amélioré la méthode en modifiant les données expérimentales jusqu'à leur niveau optimal.

Les caryopses d'avoine des variétés "Nappe d'Argent" ou "Nuprime" sont mis à germer sur de la vermiculite VERMIOR GR3 à l'obscurité, à une température de 25°C et en atmosphère saturée en eau. Au bout de 5 jours les plantules atteignent 8 à 9 cm et présentent un "noeud" bien visible au-dessus du caryopse. Elles sont coupées de façon à isoler une partie du mésocotyle, le noeud, un fragment du coléoptile et l'ébauche de feuille contenue dans le fourreau du coléoptile. L'opération se déroule en lumière verte atténuée ; on utilise un appareil comprenant deux lames parallèles coupantes distantes de 8 mm (la coupe inférieure doit toujours être opérée à 2 mm sous le noeud). Les petits cristallisoirs utilisés sont stérilisés et l'on introduit dans chacun d'eux 4 ml de "Perlite" que l'on arrose avec 2 ml de solution nutritive. La "Perlite" est préalablement lavée au méthanol-éthanol et à l'eau, puis séchée à l'étuve et finement broyée au mortier. La solution nutritive tamponnée à pH 5,5 (KH_2PO_4 0,033 M 16 volumes + Na_2HPO_4 $2H_2O$ 0,033 M 1 volume) additionnée de saccharose (2,5 %), d'un antibiotique (kanamycine base 10^{-5} g/ml) et de Tween 80 (8 g/l) contient les substances à éprouver. Les explantats sont placés en position verticale sur la perlite et contre les parois de verre du cristallisoir ; on en utilise 10 par récipient. On laisse la croissance s'opérer pendant 48 heures à l'obscurité, à 26°C en atmosphère saturée d'humidité. La mesure des feuilles est alors réalisée sur papier millimétré, on calcule ensuite l'allongement moyen par rapport à celui d'une série témoin traitée de la même manière mais sans addition de gibbérellines. Le dosage se fait là aussi par comparaison avec une gamme témoin de gibbérelline.

L'infection des cultures par les microorganismes (milieu sucré favorable) est évitée en stérilisant le matériel de culture et en ajoutant un antibiotique (kanamycine) au milieu nutritif, lequel n'a aucune influence sur la croissance de la feuille embryonnaire (MONTUELLE et OCHIN 1967).

Le test est spécifique des gibbérellines. MONTUELLE et OCHIN (1967) ont étudié séparément l'action des composés suivants sur ce test :

indole, tryptophane, tryptamine, indole-3-aldéhyde, acide indolyl-butyrique, acide indolyl-pyruvique, AIA, ANA, IAN, 2.4-D. Chacune de ces substances a été introduite aux concentrations échelonnées, par puissance de 10, de 10^{-11} à 10^{-4}. Seule la tryptamine peut être considérée comme manifestant une légère activité ; toutes les autres substances sont sans effet.

V. - RECHERCHE DES CYTOKININES(1)

1°) Extraction préliminaire

La poudre sèche obtenue par lyophilisation est intimement mélangée à 500 ml de méthanol à 80 %, préalablement chauffé à 60°C, pour environ 100 grammes de poudre. Le tout est centrifugé à 4000 tours/minute pendant 5 minutes ; le liquide est recueilli et le culot de centrifugation à nouveau traité au méthanol à 80 % porté à 60°C. L'opération est réalisée 6 à 8 fois et, à la fin du traitement, les phases liquides sont réunies. L'extrait sec obtenu après évaporation de l'eau et du méthanol est repris par du méthanol absolu pour être chromatographié sur colonne de gel de SEPHADEX LH 20. La colonne utilisée a une longueur de 90 cm et un diamètre de 45 mm et les quantités de poudre de SEPHADEX employées sont respectivement de 230 g pour Enteromorpha, 280 g pour Cystoseira et 220 g pour Gymnogongrus. L'élution à l'éthanol à 35 % (ARMSTRONG et al. 1969) permet d'obtenir 5 à 7 grandes fractions par extrait. Après élimination de l'éthanol et de l'eau, l'extrait sec de chaque fraction est repris par du méthanol absolu pour être chromatographié.

2°) Détection

a) Chromatographie sur couche mince et fluorescence.

La chromatographie est réalisée sur couche mince de cellulose WHATMANN CC 41, de 1/4 de mm d'épaisseur. Le développement des chromatogrammes est effectué en chromatographie ascendante avec le solvant méthanol (80) - acide acétique (20) - eau (20) (BUI DANG HA 1970). Les chromatogrammes sont ensuite séchés et neutralisés par des vapeurs d'ammoniaque pendant 1 heure.

Les cytokinines étant généralement des purines, elles sont décelées dans les extraits, préalablement chromatographiés, par irradiation des chromatogrammes en ultra-violets (254 et 354 nm). Mais nombreux sont les compo-

---

(1) La méthode d'analyse utilisée est schématisée dans la figure 13. Ce travail a été réalisé au laboratoire de physiologie pluricellulaire, C.N.R.S., GIF-SUR-YVETTE (Essonne).

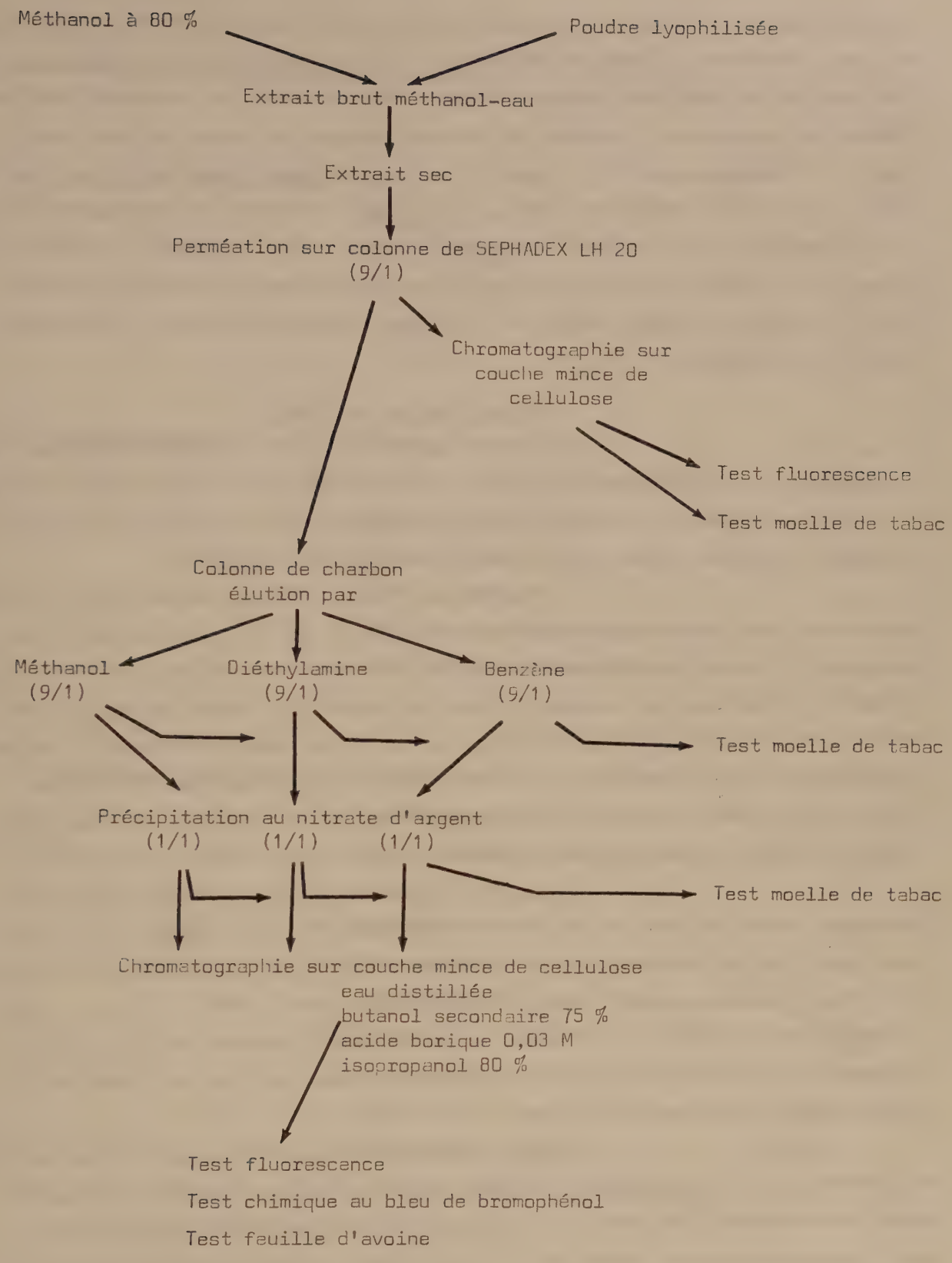


Figure 13 : Schéma de la méthode d'extraction et des essais d'identification des cytokinines dans les extraits d'algues.

sés naturels qui contiennent un noyau purique sans être pour cela des cytokinines. De plus, WOOD et al. (1969) ont montré que d'autres substances naturelles, qui ne sont pas des purines mais possèdent un noyau nicotinamide, ont également des propriétés de cytokinines. L'examen des chromatogrammes aux rayons ultra-violets devra donc nécessairement être complété par un test biologique spécifique. Toutefois, l'examen des chromatogrammes aux U.V permet de noter les principales zones de fluorescence et de partager la couche mince en 2 ou 3 fractions. La poudre de cellulose de chacune de ces fractions est recueillie dans un bécher et reprise avec 5 ml d'eau distillée tandis que le pH est ajusté à 5,5 avant la réalisation des tests biologiques.

b) Test "moelle de tabac".

Il existe plusieurs types de tests biologiques pour caractériser les cytokinines (Cf. LETHAM 1967 et NITSCH 1968). Mon choix s'est porté sur le test "moelle de tabac" qui est particulièrement spécifique et présente en outre l'avantage d'être effectué dans des conditions stériles.

JABLONSKI et SKOOG (1954) ont montré que les cellules de moelle de tabac sont incapables de se diviser si l'on n'ajoute pas au milieu nutritif à la fois une auxine et une cytokinine. A condition, par conséquent, d'ajouter une auxine, cette propriété est utilisable pour doser les cytokinines. Des fragments calibrés sont prélevés sur la moelle de plantes cultivées en serre selon la technique préconisée par NITSCH (1960). Cette méthode est préférable à celle qui consiste à réaliser le prélèvement sur une souche de cal de moelle de tabac cultivée en laboratoire dont les propriétés peuvent varier dans le temps.

On prélève au trocart dans la moelle de la partie moyenne de tiges de Tabac de la variété "WISCONSIN 38" des cylindres de 5 mm de long et de 5 mm de diamètre. Chaque cylindre est placé longitudinalement à la surface d'un milieu de culture gelosé contenu dans un tube à essai. Le milieu nutritif dérivé de la formule de MURASHIGE et SKOOG (1962) comprend les substances indiquées dans le tableau 9. Le pH est ajusté à 5,5 avec de l'acide chlorhydrique ou de la soude avant addition d'agar.

Chaque explantat est ensemencé dans un tube de 25 mm de diamètre et 17 cm de hauteur, contenant 20 ml de milieu nutritif additionné d'une des fractions (le contenu d'une fraction étant également réparti dans 12 tubes). Les cultures sont placées dans une pièce dont la température est de 25°C le jour et de 22°C la nuit. L'éclairement est fourni par des tubes fluorescents et des lampes à incandescence allumés pendant 16 heures chaque jour. Au bout de 4 semaines, les cals sont pesés directement à la sortie des tubes pour obtenir le poids

		Par litre
Macroéléments minéraux :	KNO_3	1,90 gr
	NH_4NO_3	1,65
	$CaCl_2$, 2 H_2O	0,44
	$MgSO_4$, 7 H_2O	0,37
	K H_2PO_4	0,17
Oligo éléments :	Mn SO_4, 4 H_2O	25 mg
	H_3BO_3	10
	$ZnSO_4$, 7 H_2O	10
	Na_2MoO_4, 2 H_2O	0,25
	Cu SO_4, 5 H_2O	0,025
	Solution de $FeSO_4$, 7 H_2O (5,57 g/l + Na_2EDTA (7,45 g/l)	5 ml
Substances organiques :	L-glutamine	200 mg
	myo-inositol	100
	ac. nicotinique	5
	glycine	2
	pyridoxine HCl	0,5
	thiamine HCl	0,5
	ac. folique	0,5
	biotine	0,05
	ac. indolyl-3-acétique	1
	agar (Difco)	6.000
	saccharose	30.000

Tableau 9 : Composition du milieu de culture pour moelle de tabac.

de tissus frais et vivant, puis après dessication à l'étuve à 100°C pendant 24 heures pour déterminer le poids de matière sèche.

Les résultats sont exprimés en équivalent de kinétine par comparaison avec une gamme de concentrations connues. Comme l'a expliqué BUI DANG HA (1970), la courbe d'activité en fonction de la concentration passe par un maximum puis décroît à mesure que la concentration en kinétine augmente. Cette particularité n'engendre aucune difficulté d'appréciation car l'aspect des cultures permet de reconnaître si l'on se trouve dans la partie ascendante (les tissus ont un aspect peu compact) ou dans la partie descendante de la courbe (les tissus sont compacts et formés de cellules de petite dimension).

c) Test "feuille d'avoine".

Ce test a été essentiellement utilisé pour contrôler les résultats positifs obtenus avec le test "moelle de tabac". Il est basé sur la propriété que possèdent les cytokinines de retarder la dégradation des chlorophylles dans les feuilles isolées.

Des caryopses d'avoine de la variété "BRIGHTON" sont mis à germer sur de la vermiculite et soumis à un éclairement de 16 heures de lumière artificielle (25000 lux environ) et à une température de 27°C le jour et 17°C la nuit. Au bout de 7 jours de germination, les 3 cm de l'extrêmité de la première feuille sont coupés. Les segments ainsi obtenus sont placés verticalement dans de petits béchers de 5 ml contenant 0,5 ml de l'extrait à étudier. Le tout est placé à l'obscurité à 25°C. Quatre jours après, les feuilles-témoins sont généralement jaunies, mais celles qui ont absorbé une cytokinine restent plus ou moins vertes. Les segments de feuilles sont ensuite traités 3 fois au méthanol et la teneur en chlorophylles des extraits mesurée au spectrophotomètre à 657 nm.

3°) Purification de l'extrait

Le test "moelle de tabac" et l'examen des chromatogrammes en U.V permettent de repérer, dans chaque extrait, les fractions présentant une activité de type cytokinine. Ces fractions font ensuite l'objet d'une étude plus approfondie selon une méthode partiellement inspirée des travaux de BUI DANG HA (1970). On procède tout d'abord à une absorption sur charbon actif NORIT OLP2 (5 g) de TOUZART et MATIGNON en agitant pendant 1 heure, le mélange (50 ml) est alors centrifugé ; la fraction aqueuse est conservée pour un test biologique de contrôle et le culot de charbon placé dans une colonne à chromatographie. On élue successivement avec du méthanol chauffé au bain-marie, de la diéthylamine et du benzène. Les fractions aqueuses, méthanoliques, diéthylamiques et benzéniques

sont partagées en deux lots, le premier (1/10e) sert à réaliser une nouvelle série de tests "moelle de tabac" et le second (9/10e) permet d'entreprendre une purification plus complète et d'obtenir une concentration plus grande par précipitation au nitrate d'argent (KOSHIMIZU et al. 1967, KLÄMBT et al. 1968). Pour cela, chaque fraction est évaporée, reprise à l'eau puis ajustée à pH 3,5 par de l'acide formique et additionnée, par petites quantités, d'une solution de nitrate d'argent(1). La précipitation a lieu au bout d'un temps variable selon l'extrait, en général de 2 à 48 heures. La phase aqueuse est recueillie par centrifugation, les culots sont lavés deux fois à l'eau puis mis à nouveau en suspension dans l'eau et débarrassés des ions argent à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique 0,1 à 0,2 N. Cette dernière opération s'effectue pendant 2 heures à la température du laboratoire puis pendant 1/2 heure à 50°C. Le chlorure d'argent formé est ensuite éliminé par centrifugation. La fraction aqueuse est à nouveau partagée en deux lots, le premier sert à réaliser une nouvelle série de tests "moelle de tabac" et le second est utilisé pour les essais d'identification.

4°) Identification

Le premier essai d'identification consiste à comparer les Rf obtenus en chromatographie sur couche mince de cellulose avec les Rf de certaines cytokinines connues et de substances voisines (tableau 10). A cet effet la totalité de ce qui reste de chacun des extraits est partagée en quatre parties égales et chacune d'elles appliquée sur quatre plaques de cellulose de 1/4 de mm d'épaisseur conjointement avec 10 microgrammes de zéatine prise comme référence. Chaque plaque est ensuite développée à l'aide d'un solvant différent : eau distillée, butanol secondaire à 75 % saturé en vapeurs NH_3, isopropanol à 80 % saturé en vapeurs NH_3, acide borique 0,03 M à pH 8,4 avec NaOH.

Le deuxième essai d'identification est un test de coloration. Les produits actifs sont récupérés par du méthanol sur la plaque développée avec le n butanol et la moitié(2) est déposée sur une pellicule de cellulose MN-CEL 300. La pellicule est traitée par un réactif composé d'un mélange à parts égales d'une solution acétonique de bleu de bromophénol (0,4 g/100 ml) et d'une solution aqueuse de $AgNO_3$ (2 g/100 ml). La pellicule est ensuite séchée à la température du laboratoire puis lavée à l'eau distillée. A ce moment là, la présence de substances à noyau purique ou pyrimidique sera révélée par l'apparition de taches bleues sur la plaque traitée par le réactif.

---

(1) En raison de 300 ml d'$AgNO_3$ à 10 % pour 500 ml d'extrait aqueux.
(2) L'autre moitié est utilisée pour confirmer, à l'aide du test "feuille d'avoine", l'activité révélée par le test "moelle de tabac".

Composés	H_2O 100 %						Butanol secondaire 75 %							
	1ère exp.		2ème exp.		3ème exp.		1ère exp.		2ème exp.		3ème exp.		4ème exp.	
	Rf	R_{ad}	Rf	R_{ad}	Rf	R_{ad}	Rf	R_{ad}	Rf	R_{ad}	Rf	R_{ad}	Rf	R_{ad}
Bases :														
Adénine	0,39	1,00	0,38	1,00	0,29	1,00	0,50	1,00	0,55	1,00	0,56	1,00	0,55	1,00
Cytosine			0,80	2,10	0,79	2,72					0,38	0,67	0,40	0,73
Uracile					0,80	2,75			0,57	1,04			0,51	0,93
Thymine			0,74	1,94							0,59	1,05		
Triacanthine	0,44	1,13					0,61	1,22	0,63	1,15				
Zéatine	0,54	1,39	0,55	1,44					0,85	1,55	0,68	1,22		
Kinétine	0,52	1,33					0,83	1,66	0,93	1,69				
6-benzyladénine	0,46	1,18					0,88	1,76	0,95	1,73				
Nucléosides :														
Adénosine	0,59	1,51					0,50	1,00						
Guanosine	0,68	1,74			0,56	1,93							0,34	0,61
SD-8339	0,60	1,53					0,95	1,90	0,98	1,79				
Nucléotides :														
Acide adénylique	0,94	2,41	0,97	2,55			0,17	0,34			0,15	1,27	0,17	0,31
Ac. guanylique	0,96	2,46			0,98	3,37							0,13	0,24
Ac. thymidilique			0,96	2,52							0,13	0,24		
Ac. cytidylique											0,09	0,16		
Ac. uridylique							0,18	0,36						

Tableau 10 : Rf de quelques cytokinines et substances voisines en chromatographie sur couche mince de cellulose. (BUI DANG HA 1970)

VI. - ANALYSE DE L'EAU DE MER

Des essais préliminaires ont permis de choisir la méthode à la fois la plus efficace et la plus simple pour analyser l'eau de mer. Ils consistaient essentiellement à dissoudre une quantité donnée d'hormone dans un volume connu d'eau de mer et à déterminer la méthode la plus satisfaisante pour extraire le maximum d'hormone de cette eau de mer enrichie artificiellement. La méthode à l'Amberlite (RILEY et al. 1969), la technique utilisant les charbons adsorbants (KAHN WAYMAN 1964) et enfin les méthodes d'extraction par des solvants organiques non miscibles à l'eau, employés pour extraire le maximum de matière organique contenue dans l'eau de mer, ont été successivement essayées. En définitive c'est l'extraction à l'acétate d'éthyle qui a été retenue.

Dix litres d'eau de mer sont mélangés à 8 litres d'acétate d'éthyle et placés pendant 1 heure dans un agitateur alternatif. La phase organique est séparée de la phase aqueuse et cette dernière à nouveau traitée avec 8 litres d'acétate d'éthyle. L'opération est répétée de la sorte 3 fois. L'eau de mer est ensuite acidifiée à pH 3 par de l'acide chlorhydrique et traitée à nouveau 3 fois à l'acétate d'éthyle. Après évaporation de l'acétate d'éthyle on obtient deux extraits, l'un à pH normal, l'autre à pH acide. Ces extraits sont alors traités par les techniques décrites plus haut pour le dosage des auxines et des gibbérellines.

L'analyse de l'eau de mer permet de savoir si, à l'état naturel elle contient des produits de nature hormonale et de calculer le temps de dégradation des hormones synthétiques qu'on y ajoute artificiellement.

CHAPITRE 2 : DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL ET DES ACIDES AMINES

Le dosage de l'azote total est réalisé par la méthode de KJELDAHL(1) en utilisant comme catalyseur l'oxyde rouge de mercure. Le taux de protéines est obtenu en multipliant conventionnellement le pourcentage d'azote total par le coefficient d'ATWATER (6,25).

Le dosage des acides aminés comporte trois phases successives : la libération, par hydrolyse acide, des acides aminés constitutifs des protéines, leur séparation par chromatographie et enfin leur dosage par colorimétrie.

Un échantillon de poudre d'algue correspondant à environ 8 mg d'azote total est traité par 150 ml d'acide chlorhydrique 6 N à 140°C, sous condensation à reflux pendant 24 heures, selon la méthode de SCHRAM et al. (1953). La cystéine et la cystine partiellement détruites par cette hydrolyse acide sont préalablement transformées en acide cystéique par une oxydation performique selon la méthode de MOORE (1963). Cette oxydation réalisée sur une prise d'essai identique à celle précédemment mentionnée est suivie d'une hydrolyse acide par HCl 6N. Les hydrolysats sont filtrés sur verre fritté pour éliminer les humines formées au cours de l'hydrolyse, concentrés sous vide selon la méthode de CRAIG et al. (1950) puis ramenés à un volume final de 10 ml.

Les analyses qualitatives et quantitatives des acides aminés sont réalisées sur résines échangeuses d'ions, à l'aide de l'appareil automatique AMINSÄUREN ANALYSATOR BIOCHROM selon la méthode de MOORE et al. (1958). Les principales caractéristiques des différentes analyses chromatographiques sont schématisées ci-après :

a) Séparation et dosage des acides aminés acides et neutres :

Résine : type BIO RAD A6 ; colonne de résine : hauteur 54 cm, diamètre 0,9 cm ; température : 45°C puis 55°C après l'enregistrement du pic de la proline ; solutions tampons effluentes : pH 3,25 puis pH 4,5 après l'enregistrement du pic de l'acide glutamique ; débit des solutions effluentes : 70 ml/h ; débit du réactif à la ninhydrine : 35 ml/h.

---

(1) Cf. Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemist. Tenth Edition, Washington, 1965 ; procédé n° 2044, p. 16.

b) Séparation et dosage des acides aminés basiques :

Résine : type BIO RAD A5 ; colonne de résine : hauteur 22 cm, diamètre 0,9 cm ; température : 30°C puis 56°C après l'enregistrement du pic d'histidine ; solutions tampons effluentes : pH 4,26 puis 5,28 après l'enregistrement du pic d'histidine ; débit des solutions effluentes : 60 ml/h ; débit du réactif à la ninhydrine : 30 ml/h.

CHAPITRE 3 : ACTION DES HORMONES SUR LES ALGUES

Les méthodes permettant d'éprouver l'action des phytohormones sur les algues reposent toutes sur le même principe : fournir à celles-ci une quantité définie d'une hormone déterminée et examiner les modifications de leur morphogenèse et de leur physiologie. Etant donné qu'il est impossible de détruire les hormones endogènes et leurs précurseurs, les réactions enregistrées ne sont en fait que le résultat d'un apport supplémentaire d'hormone. Cette méthode d'enrichissement hormonal ne pourra donc conduire à des données concluantes que si le seuil d'efficacité n'est pas déjà atteint naturellement chez l'espèce considérée. Il convient donc de préciser, en préambule, que si l'hormone utilisée n'a aucune action tangible sur une espèce donnée, cela ne signifie pas d'emblée qu'elle ne participe pas à ses métabolismes naturels. De la même façon une inhibition pourra s'expliquer, dans certains cas, par le fait que le taux d'hormones endogènes avait déjà atteint l'optimum d'efficacité avant l'enrichissement. A l'inverse, une réaction positive à l'application d'hormone exogène n'est pas suffisante pour affirmer que cette hormone règle naturellement les phénomènes observés ; on pourra par contre en être assuré si l'analyse chimique permet, en plus, d'identifier la même substance dans les extraits naturels.

L'étude de l'action des phytohormones sur les algues a été réalisée soit en laboratoire, soit en mer.

I. - EXPERIENCES IN SITU

Les expériences en mer nécessitent un équipement et un outillage appropriés. Dès que la profondeur dépasse quelques dizaines de centimètres l'utilisation d'un scaphandre autonome est nécessaire.

Le choix des stations à étudier est important ; il faut veiller en particulier à ce que les conditions de vie des témoins et des algues traitées soient en tous points identiques et que l'échantillonnage soit réalisé au sein de peuplements caractéristiques. Le travail consiste à repérer les stations, à traiter les algues choisies et enfin à mesurer les algues à l'étude.

Sur la côte, le repérage des stations se fait à l'aide de flèches tracées à la peinture sur les rochers indiquant leur emplacement à partir des rivages émergés. La mise en place de tampons de scellement métalliques profondément encastrés dans les rochers donne une sécurité supplémentaire dans le

cas où ces flèches ne seraient plus visibles sur les rochers. Cette technique est rendue possible par l'emploi d'un pistolet spécial de scellement sous-marin (AUGIER 1969 et 1972) dont le fonctionnement n'est pas perturbé par l'eau de mer et par la pression existant aux profondeurs normales de plongée en scaphandre autonome. Au fond, les espèces traitées sont également repérées à l'aide de ces tampons de scellement. Lorsque cela s'avère nécessaire, le repérage se fait encore à l'aide de petits ballons colorés flottant entre deux eaux au bout de câbles maintenus par des tampons de scellement. Sur substrat meuble le repérage est réalisé en enfonçant à la main des piquets métalliques ou en baguant les individus. L'emplacement des espèces dans chaque station est repéré par un schéma sur rhodoïd.

Le traitement par injection des hormones à l'aide d'une seringue est malaisé en plongée et n'a été utilisé que très rarement. Les résultats peuvent en effet être faussés non seulement en raison du traumatisme provoqué par la piqûre du thalle mais également parce que l'action des produits injectés se localise trop longtemps au point d'injection chez les algues qui sont dépourvues de tout appareil circulatoire. Le traitement à la lanoline additionnée d'hormones (PILET 1961) a été utilisé quelquefois dans les étages supralittoral et médiolittoral sur des espèces découvertes par les vagues. Néanmoins, de toutes les méthodes employées, ce sont celles utilisant le procédé par trempage qui ont donné les meilleurs résultats. Le trempage se fait à l'extérieur ou au fond. Le traitement à l'extérieur est pratiqué de la manière suivante : des éclats de roche préparés à l'avance sont placés dans les peuplements au moins un an auparavant et fixés au sol par des tampons de scellement filetés. Lorsqu'ils sont couverts d'algues, on les remonte à la surface et on trempe les algues au moins pendant une demi-heure dans de l'eau de mer additionnée d'hormones puis on les remet en place. Le trempage au fond consiste à se munir d'un récipient hermétique transparent contenant de l'eau de mer enrichie en hormones, à l'ouvrir au fond de l'eau et à l'appliquer aussitôt sur le substratum à l'aide d'un manchon en mousse de caoutchouc de telle sorte que l'algue soit isolée du milieu extérieur pendant 10 à 30 minutes selon le cas.

Les mesures sont réalisées à l'aide d'une réglette métallique graduée au 1/10ème de mm.

II. - CULTURES EN LABORATOIRE

Les expériences en laboratoire ont été réalisées à l'aide d'une petite unité phytotronique construite en 1967 avec le concours financier du C.N.R.S. (AUGIER 1968 et 1972). Cet appareillage a reçu le nom de "Microphycotron" pour le différencier d'un bac à culture ordinaire dans lequel ne sont

régulés qu'un nombre réduit de facteurs du milieu. Le microphycotron comprend essentiellement une enceinte à culture en relation avec trois ensembles distincts : l'unité de conditionnement de l'air, l'unité d'éclairement et l'unité de régulation de l'eau de mer. On y est maître des principaux facteurs de l'environnement : température, éclairement, oxygénation, agitation, composition du milieu de culture, etc... En théorie il est donc possible de reproduire l'ambiance écologique la plus favorable au développement de l'espèce mise en culture et de maintenir cette ambiance aussi longtemps qu'on le désire. Malheureusement, les travaux portant sur les mesures in situ des différents paramètres écologiques sont peu nombreux et très fragmentaires. En fait, aucun des biotopes définis par les études écobiocénotiques (voir AUGIER et al. 1971) n'est caractérisé par des mesures précises. En laboratoire on en est donc réduit à définir l'ambiance écologique par tâtonnements en faisant varier les conditions de culture. Ce que l'on réalise en définitive et compte tenu de la multiplicité des variantes écologiques (AUGIER 1971) c'est, le plus souvent, une ambiance favorable non pas à un développement optimal mais seulement à la survie. Les travaux de PELLEGRINI (In AUGIER 1968 et AUGIER et al. 1971) m'ont servi de jalons de référence pour les variations de température. En ce qui concerne la lumière, le montage permet non seulement de soumettre les cultures à un éclairement quantitativement programmé mais également de reproduire les photopériodismes et des éclairements monochromatiques variables aussi en intensité.

Le choix du milieu de culture dépend de la nature des expériences projetées. Un milieu de culture artificiel s'impose lorsqu'il s'agit de réaliser des cultures pures mais il doit être adapté à chaque espèce et son utilisation implique un choix difficile parmi un nombre élevé de "recettes". Il convient de souligner, à ce sujet, qu'en cultivant les algues dans des milieux synthétiques et stériles on s'éloigne considérablement des conditions naturelles, ce qui pourrait fausser les conclusions tirées des expériences. C'est la raison pour laquelle nous avons toujours utilisé de l'eau de mer naturelle préalablement filtrée sur toile et sur papier WHATMANN pour éliminer les débris d'organismes. Le milieu de culture est renouvelé au moins toutes les semaines dans les bacs de culture pour empêcher le confinement. L'eau de mer est prélevée loin de la côte par pompage, à un mètre de profondeur, à partir d'une embarcation, et mise en réserve au laboratoire.

Toutes les cultures bénéficient en outre d'un enrichissement organique avec un extrait de sol. Cet extrait de sol est préparé de la façon suivante : dans un ballon de deux litres contenant 1 litre d'eau distillée et stérilisée, on ajoute 1 Kg de terre de bruyère du commerce. On mélange soigneu-

sement et on laisse l'infusion se faire lentement en agitant souvent pour remettre la terre en suspension dans le liquide. Le mélange est ensuite porté à 80°C pendant quelques minutes ; on laisse décanter puis on filtre sur papier WHATMANN. Le filtrat est enfin stérilisé par filtration sur membranes MILLIPORE en utilisant le filtre HA à pores de 0,45 M de diamètre selon la méthode décrite par BERLAND (1966).

L'addition des phytohormones se fait directement dans le milieu de culture au moyen d'une solution aqueuse concentrée contenant les mêmes proportions en sels que l'eau de mer.

TROISIEME PARTIE

R E S U L T A T S

CHAPITRE 1 : LES PHYTOHORMONES ENDOGENES DES ALGUES

I. - AUXINES

Chaque espèce a fait l'objet d'un nombre variable d'analyses : de l'ordre d'une à six pour la réalisation des tests biochimiques et de deux en général pour les tests biologiques. Les analyses ont été faites le plus souvent à partir d'un lot de poudre lyophilisée provenant d'une seule récolte. Les tests biologiques ont permis de dresser, pour chaque espèce, un histogramme comportant en ordonnées l'élongation des segments de mésocotyle et en abscisses les Rf. Chaque histogramme est complété par un tableau dans lequel sont consignés les résultats obtenus à l'aide des tests biochimiques et de la filtration moléculaire sur gel de dextranes.

Les dosages sont donnés par comparaison de la croissance avec celles produites par une gamme connue d'AIA : 1, 3, 10, 30 et 100 microgrammes par litre. D'abord calculés par rapport à la quantité de poudre lyophilisée, les résultats sont finalement exprimés en fonction du poids de matière fraîche (algue vivante) en tenant compte de la quantité d'eau recueillie dans les pièges du lyophilisateur. Les variables entrant en jeu dans le calcul des concentrations sont trop nombreuses pour espérer obtenir des valeurs d'une grande précision ; les concentrations ne sont donc données qu'à titre purement indicatif.

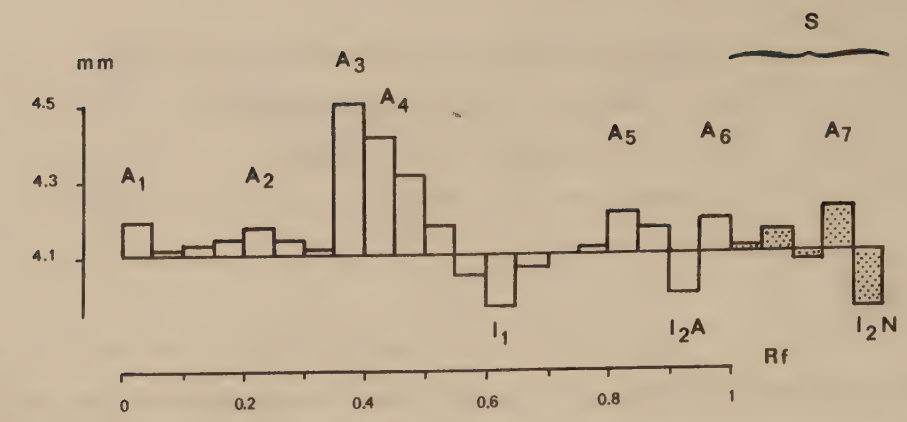
1°) Chlorophycées

a) Cladophora laetevirens

Cette Cladophore a été récoltée au Brusc (Var) à proximité de la passe entre le Grand Gaou et les Embiez, le 20 septembre 1970, dans un peuplement photophile de mode calme du médiolittoral supérieur, en mélange avec des Enteromorphes et des Padina pavonia, entre 5 et 20 cm de profondeur (longueur moyenne des individus : 65 mm).

Cette espèce possédait, à ce stade de développement, les substances indiquées dans la figure 14. Son examen permet de formuler les remarques suivantes :

- une activité importante se manifeste au niveau du Rf 0,35 à 0,50 dans les deux types de chromatographie utilisés. Les réactifs indiquent que cette activité provient de la présence d'au moins deux substances de croissance :



C P	G W	+	□ □	–	–
	P	+	□ □	–	–
	D	+	□ □	–	–
C C M	S	+	□ □	–	–
	P	+	□ □	–	–
	V U	+	□ □	–	–
Ve		+	□ □	–	–

Figure 14 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire réalisés avec un extrait de Cladophora laetevirens.

(Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 500 mg de poudre lyophilisée et les tests biochimiques sur des extraits de 300 grammes).

- Histogramme : Ordonnées = élongation des segments de mésocotyles (chaque barre correspond à une moyenne calculée sur 10 segments mesurant 4 mm au départ par rapport au témoin), abscisses = Rf du chromatogramme sur papier, S = substances neutres séparées par le deuxième solvant de la chromatographie double à une dimension, le trait qui sépare les activateurs de croissance (A) des inhibiteurs (I) correspond à l'élongation des mésocotyles témoins.
- Tests biochimiques : CP = chromatographie sur papier, CCM = chromatographie sur couche mince, GW = réactif de Gordon-Weber, P = réactif de Prochazka, D = réactif au diméthylaminocynnamaldéhyde, S = réactif de Salkowsky modifié par Pilet, VU = réactif de Van Urk, + = test positif et coloration caractéristique, - = test négatif aucune coloration, les petits carrés indiquent un test positif mais non caractéristique.
- Filtration moléculaire : Ve = Volume d'élution (Le Ve correspond à la quantité de méthanol qu'il faut injecter dans deux colonnes couplées de gel de SEPHADEX LH 20, de 90 et 45 cm de longueur, pour faire sortir de celles-ci la substance considérée ; Cf. p. 57 à 62).
- Dosages (Le dosage correspond à la quantité d'hormone contenue dans un Kg d'algues vivantes. La concentration des substances non identifiées est rapportée à la quantité d'AIA qui produirait la même élongation des mésocotyles d'avoine. Le dosage des substances identifiées est réalisé par comparaison de l'élongation des mésocotyles avec celles produites par une gamme connue de la même substance : 1, 3, 10, 30 et 100 microgrammes/l) : A_1 = 0,7 microgramme/Kg d'algues vivantes, A_2 = 3,7 microgrammes/Kg, A_3 = 1,7 microgramme/Kg.

. une substance (A_3) au Rf correspondant à celui de l'AIA (0,35 en chromatographie sur papier - 0,35 en chromatographie sur couche mince avec le solvant CAAE et 0,40 avec le solvant AMIA) mais dont les teintes obtenues par les réactifs biochimiques (jaune orangé au Salkowski et au Gordon Weber, mauve jaunâtre au Prochazka et marron mauve au Van Urk) ne sont pas caractéristiques de cette auxine ;

. une substance (A_4) à Rf 0,40 dans les deux types de chromatographie donnant des teintes très légères avec les réactifs biochimiques sauf avec le Gordon Weber et le Salkowski (orangé soutenu). Ces teintes ne sont caractéristiques d'aucun composé indolique soumis aux tests de référence. Par ailleurs, le volume d'élution de cette substance est particulièrement élevé puisqu'elle se localise dans les dernières fractions du collecteur (700 ml) ;

- une activité plus faible (A_2) apparaît au Rf 0,20 en chromatographie sur papier et sur couche mince avec le solvant AMIA et 0,05 avec le solvant CAAE. Le volume d'élution (260 ml) et les teintes obtenues par les réactifs biochimiques (jaune orange au Gordon Weber, au Salkowski et au Prochazka, bleu terne au Van Urk) sont les mêmes que celles du tryptophane ;

- quatre autres activateurs de croissance (A_1, A_5, A_6 et A_7), de faible activité, se localisent à proximité de la ligne de dépôt (A_1) et au voisinage du front du solvant (A_5 et A_6 dans les substances acides, A_7 dans la zone des substances neutres). Ces quatre substances ne doivent pas être de nature indolique puisqu' elles ne se colorent par aucun des réactifs utilisés ;

- on décèle en outre la présence de trois inhibiteurs de croissance (I_1, I_2 et I_3) de nature inconnue dont l'un est situé dans la zone des substances neutres (I_3).

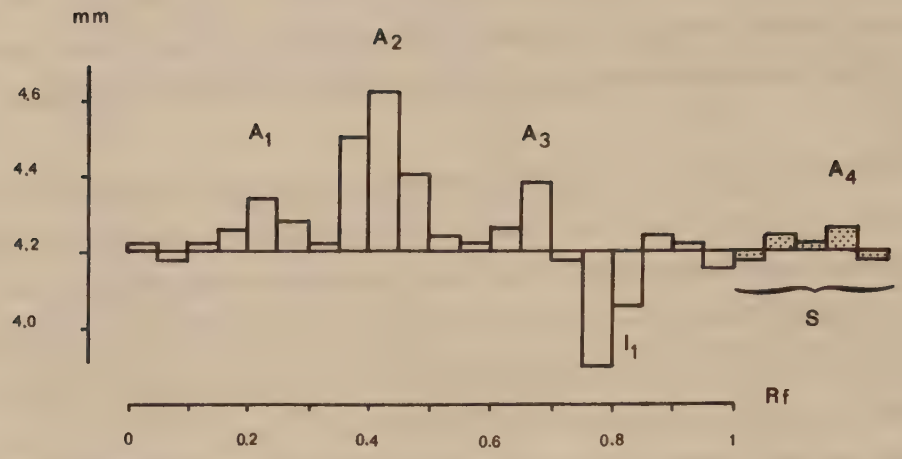
b) Cladophora utriculosa

Cette algue a été récoltée au Brusc (Var), le 5 mars 1965, et gardée sous forme de poudre lyophilisée jusqu'en 1968. Elle a été prélevée au sein d'un peuplement de mode calme, dans un biotope photophile à 20 cm de profondeur. Les individus avaient une longueur moyenne de 78 cm.

Les essais ont établi l'existence de 4 activateurs et d'un inhibiteur de croissance (fig. 15) :

- un activateur A_1 au Rf du tryptophane dont le volume d'élution et les teintes obtenues avec les tests biochimiques correspondent à ceux de ce composé ;

- un activateur A_2 au Rf voisin de celui de l'AIA et dont les teintes aux réactifs de coloration sont semblables à celles obtenues pour Cladophora laetevirens et au même Rf. Dans ce cas encore, cette substance ne peut pas être assimilée à l'AIA ;



C P	G W	+	□	+	-
	P	+	□	+	-
C C M	S	+	□	□	
	VU	+	□	□	
Ve		+	□	+	

Figure 15 : Résultat du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire réalisés avec un extrait de Cladophora utriculosa.
(Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 1 gramme de poudre lyophilisée et les tests biochimiques avec des extraits de 300 grammes - Même légende que pour la figure 14 - Dosages : A_1 = 0,8 microgramme/Kg d'algue fraîche, A_2 = 2,8 microgrammes/Kg, A_3 = 1,2 microgramme/Kg).

- un activateur plus faible (A_3) localisé au Rf 0,65 en chromatographie sur papier et dont la teinte obtenue par le Gordon Weber et par le Prochazka (orangée) ainsi que le volume d'élution sont à rapprocher de ceux de la tryptamine. Des expériences complémentaires, nécessaires pour en obtenir une confirmation, n'ont pu être réalisées en raison de la trop faible quantité de poudre disponible ;
- un activateur A_4 d'activité négligeable dans la zone des substances neutres ;
- un inhibiteur (I_1) au Rf 0,80 de nature inconnue.

c) Codium fragile

Cette espèce a été récoltée le 16 novembre 1968 au large de la Pointe Rouge près de Marseille (Bouches-du-Rhône), par 10 mètres de fond, en plongée à l'aide du scaphandre autonome. Le milieu était passablement pollué par la proximité du grand port phocéen et des émissaires d'eau usée. Les échantillons avaient une longueur moyenne de 9 cm. La poudre lyophilisée a été conservée jusqu'au 4 décembre 1969. Nous avons examiné très soigneusement les échantillons afin de nous assurer qu'ils ne présentaient pas d'épiphytes et d'endophytes (le Rhodothamniella codii en particulier, très fréquent sur ces Codiums).

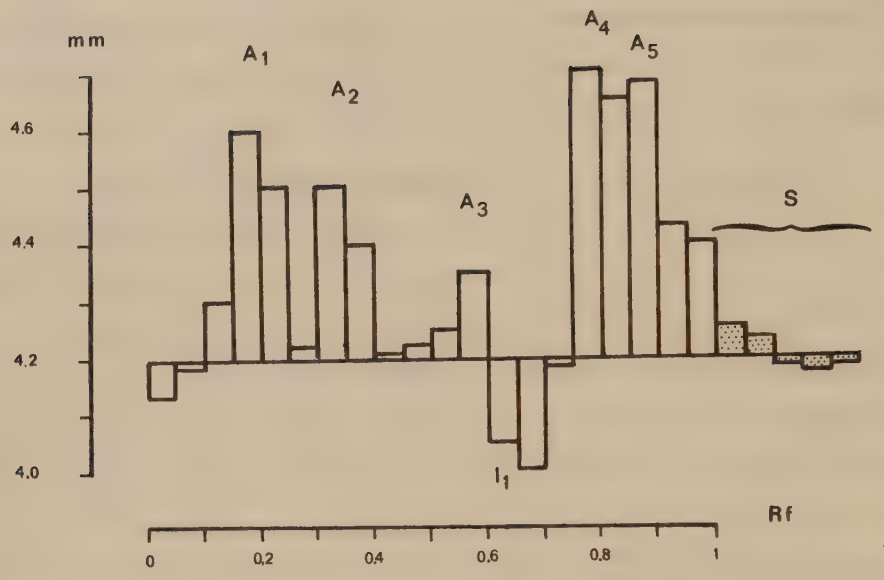
L'examen de la figure 16 permet de constater la présence des substances suivantes :

- un activateur A_1 dont le Rf, le volume d'élution et la teinte jaune-orangé au Gordon Weber et au Prochazka sont caractéristiques du tryptophane ;
- un activateur A_2 localisé au Rf de l'AIA mais dont les teintes obtenues aux réactifs biochimiques ne sont pas caractéristiques ;
- un activateur A_4 au Rf 0,80 qui donne une teinte bleu vif au Gordon Weber et mauve orangé au Prochazka ce qui est caractéristique de l'IAN ;
- un activateur A_5, chromatographiquement très proche de l'IAN mais dont le Rf (0,90) et les colorations aux réactifs biochimiques (mauve terne au Gordon Weber, orangé pâle au Prochazka) sont caractéristiques de l'IAE ;
- un activateur A_3 qui donne un pic de faible importance avec le test mésocotyle et qui ne se colore pas avec les réactifs des produits indoliques ;
- un inhibiteur I_1 de nature inconnue, au Rf 0,70.

d) Enteromorpha compressa

Cette espèce a été récoltée le 15 mars 1968 à Carro (Bouches-du-Rhône) sur des galets ensablés dans le médiolittoral supérieur photophile. Deux lots de taille différente ont été analysés : dans le premier la longueur moyenne des algues était de 15 mm, dans le second 91 mm.

Les expériences préliminaires réalisées respectivement avec 0,5 g de poudre lyophilisée pour le test biologique et 20 g pour les tests



C P	G W	+	□	−	+	+
	P	+	□	−	+	+
	Ve	+	□	□	+	+

Figure 16 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire réalisés avec un extrait de Codium fragile. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 150 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec un extrait de 200 grammes - Même légende que pour la figure 14 - Dosages : A_1 = 32 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_2 = 12 microgrammes/Kg, A_4 = 35 microgrammes/Kg, A_5 = 28 microgrammes/Kg).

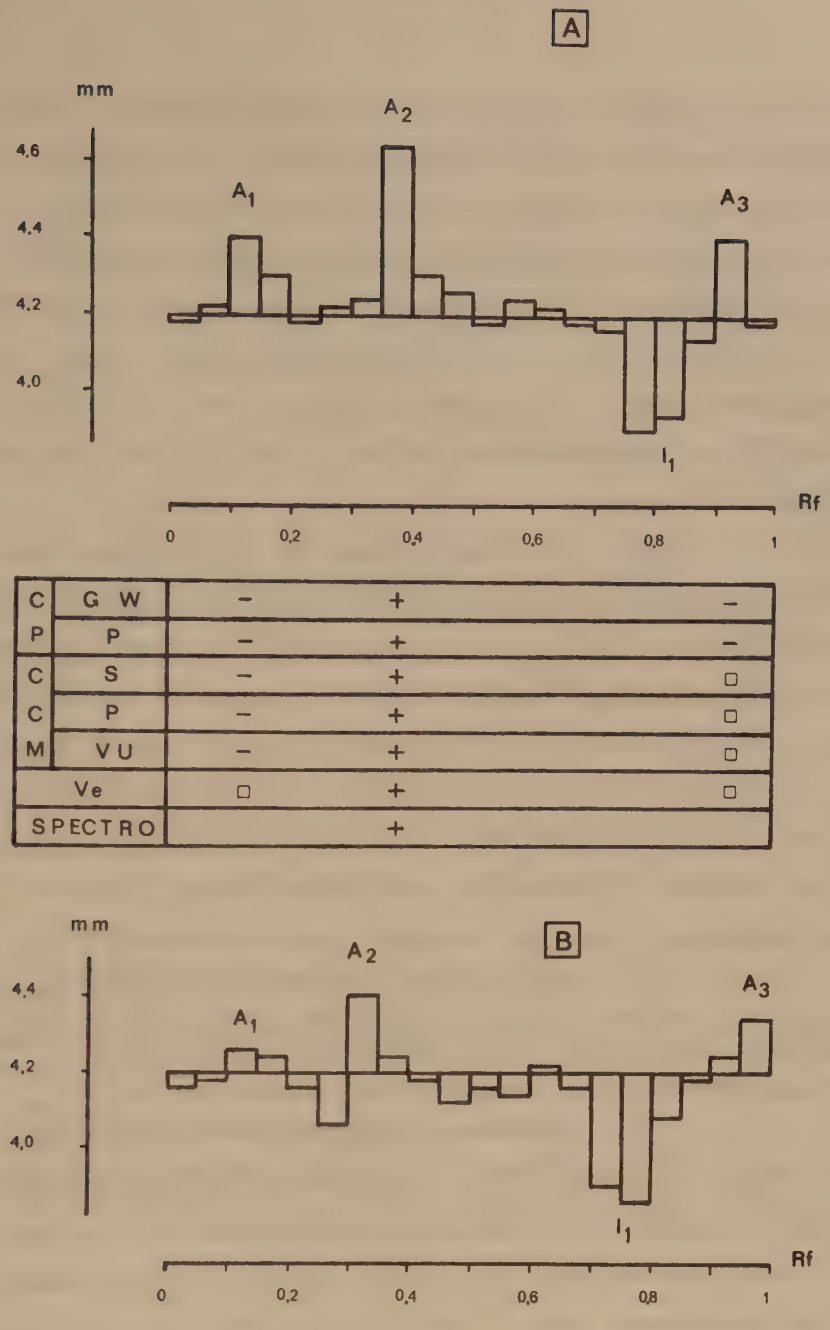


Figure 17 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire réalisés sur un extrait d'Enteromorpha compressa. (Les tests biologiques ont été réalisés avec un extrait de 6 grammes de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 600 grammes) - Même légende que pour la figure 14, avec les indications supplémentaires suivantes : SPECTRO = spectrophotométrie dans l'ultra-violet ; longueur moyenne des algues A = 15 mm, B = 91 mm. Dosages (concernent le lot A): A_1 = 0,15 microgramme/Kg d'algue fraîche, A_2 = 1,3 microgramme/Kg, A_3 = 0,2 microgramme/Kg).

biochimiques n'ont pas donné de résultats probants. SCHIEWER (1967), qui a également analysé cette espèce, a déjà préconisé l'emploi de quantités importantes d'algues. Un second essai portant sur 6 g de poudre lyophilisée pour le test mésocotyle et 300 g pour les tests biochimiques a permis d'obtenir les résultats consignés dans la figure 17. L'histogramme A correspond à un lot d'algues jeunes (15 mm) et l'histogramme B à un lot d'algues plus agées (91 mm). La comparaison de ces deux histogrammes montre que les algues jeunes sont plus riches en auxines que les algues agées ; les tests biochimiques ont porté sur les extraits d'algues en pleine croissance (lot A).

Le test mésocotyle révèle l'existence de trois activateurs de croissance (A_1, A_2 et A_3) dont l'un au Rf de l'AIA (A_2) ainsi que la présence d'un inhibiteur (I_1) au Rf 0,80, inhibiteur observé également par SCHIEWER. Les tests biochimiques donnent sur les chromatogrammes en couche mince et sur papier la teinte caractéristique de l'AIA dans la zone de son Rf (A_2) à condition d'utiliser au moins 300 g de poudre lyophilisée. La réalisation de ces tests a nécessité l'emploi de tous les procédés d'épuration des extraits décrits plus haut et plus particulièrement la méthode de congélation-décongélation et la chromatographie dans l'hexane.

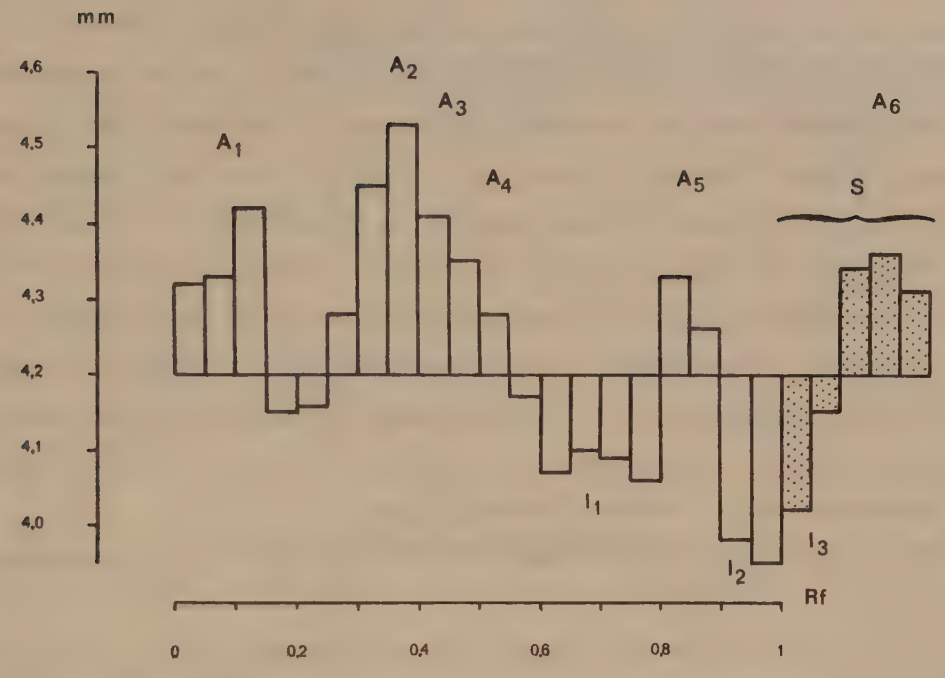
La substance A_1 localisée au Rf 0,1 à 0,2 ne donne aucune coloration avec les tests biochimiques. Il en est de même pour la substance A_3 au front du solvant.

Comme l'a fait SCHIEWER en 1967, nous avons soumis un extrait de cette Enteromorphe à une hydrolyse alcaline. Les essais ont été réalisés de la façon suivante : 10 g de poudre lyophilisée sont mélangés à 200 ml de NaOH N/40. On laisse macérer pendant un jour à la température ambiante ; la solution est ensuite neutralisée avec HCl N/10 jusqu'à pH 6,5. La solution aqueuse est ensuite mélangée à de l'éther sulfurique déperoxydé. La phase aqueuse est jetée après contrôle et la phase éther évaporée. Le résidu éthéré sec est repris au méthanol pour l'analyse par perméation sur gel. Les essais ont démontré que l'hydrolyse alcaline libère une quantité supplémentaire d'AIA considérable, ce qui confirme l'existence d'auxines "liées" chez les algues (VAN OVERBECK 1940, BENTLEY 1961, TANDLER 1962, MOWAT 1964, SCHIEWER 1967).

2°) Phéophycées

a) Cystoseira stricta

Les Cystoseira stricta forment une ceinture de végétation caractéristique des rochers battus de l'étage infralittoral supérieur (MOLINIER 1958, AUGIER et al. 1971). C'est à ce niveau, dans la région du Brusc (Var),



C	G W	−	+ □ □		+	□
P	P	−	+ □ □		□	□
C	S	−	+ □ □		+	
C	P	−	+ □ □		□	
M	VU	−	+ □	−	+	
Ve			+ □ □		□	
SPECTRO			+			

Figure 18 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire réalisés avec un extrait de Cystoseira stricta.
(Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 2 grammes de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 300 grammes) - Même légende que pour les figures 14 et 17 - Dosages : A_1 = 3 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_2 = 8 microgrammes/Kg, A_3 et A_5 = 2 microgrammes/Kg).

à la pointe du Petit Gaou, que cette espèce a été récoltée le 7 février 1971. Les individus avaient une longueur moyenne de 70 mm. Les expériences ont donné les résultats mentionnés dans les figures 18 et 19.

- une activité se manifeste (A_1) près de la ligne de dépôt (Rf 0,0 à 1,5 en chromatographie sur papier) ; le produit actif ne donne aucune coloration avec les réactifs biochimiques des composés indoliques. La méthode d'épuration par chromatographie dans l'hexane indique qu'il s'agit de deux substances différentes. En effet, si on découpe en trois parties le chromatogramme obtenu avec l'hexane (fig. 19) et qu'on chromatographie à nouveau l'éluat de chacune de ces fractions par les solvants habituels, il est possible de mettre en évidence un activateur au Rf 0,1 dans la fraction 1 et un autre activateur, au même Rf, dans la fraction 2. Comme précédemment on n'obtient aucune coloration avec les tests biochimiques des composés indoliques. On verra plus loin, que l'une au moins de ces deux substances est de nature gibbérellique ;
- une autre zone d'activité s'étendant du Rf 0,30 au Rf 0,50 correspond à plusieurs substances :

. A_2 qui donne les teintes caractéristiques de l'AIA avec les tests biochimiques (rose au Gordon Weber et au Salkowski, jaune vif au Prochazka, rose mauve au Van Urk) et que caractérisent également son Rf (0,30) et son solume d'élution (300 ml) ;

. A_3 au Rf 0,35 - 0,40 qui donne une teinte jaune bistre au Gordon Weber, mauve rougeâtre au Prochazka et brun grisâtre au Van Urk et dont le volume d'élution est très faible (elle se localise dans les premières fractions du collecteur). Ses caractéristiques ne correspondent pas à un composé indolique couramment rencontré mais il est possible aussi que la couleur initiale du composé indolique soit modifiée par la présence, au même Rf, d'une ou plusieurs autres substances colorées ;

. A_4 au Rf 0,50 en chromatographie sur papier, de nature également inconnue. Ce produit présente un volume d'élution voisin de celui de l'AIA mais il donne une teinte mauve au Gordon Weber et au Prochazka UV, tandis que le Prochazka en lumière naturelle donne une teinte saumon et que le Van Urk est inactif.

Il est possible que les substances A_3 et A_4, dont les caractéristiques biologiques et biochimiques ne correspondent à aucun composé indolique banal, ne soient pas responsables de l'activité biologique notée à leur Rf par le test mésocotyle. J'ai noté, en effet, dans cette zone, une certaine activité à l'égard des tests caractéristiques des gibbérellines (voir plus loin) ce qui laisserait supposer que ces substances pourraient masquer un produit de cette nature qui serait responsable de l'activité biologique. (Il ne faut

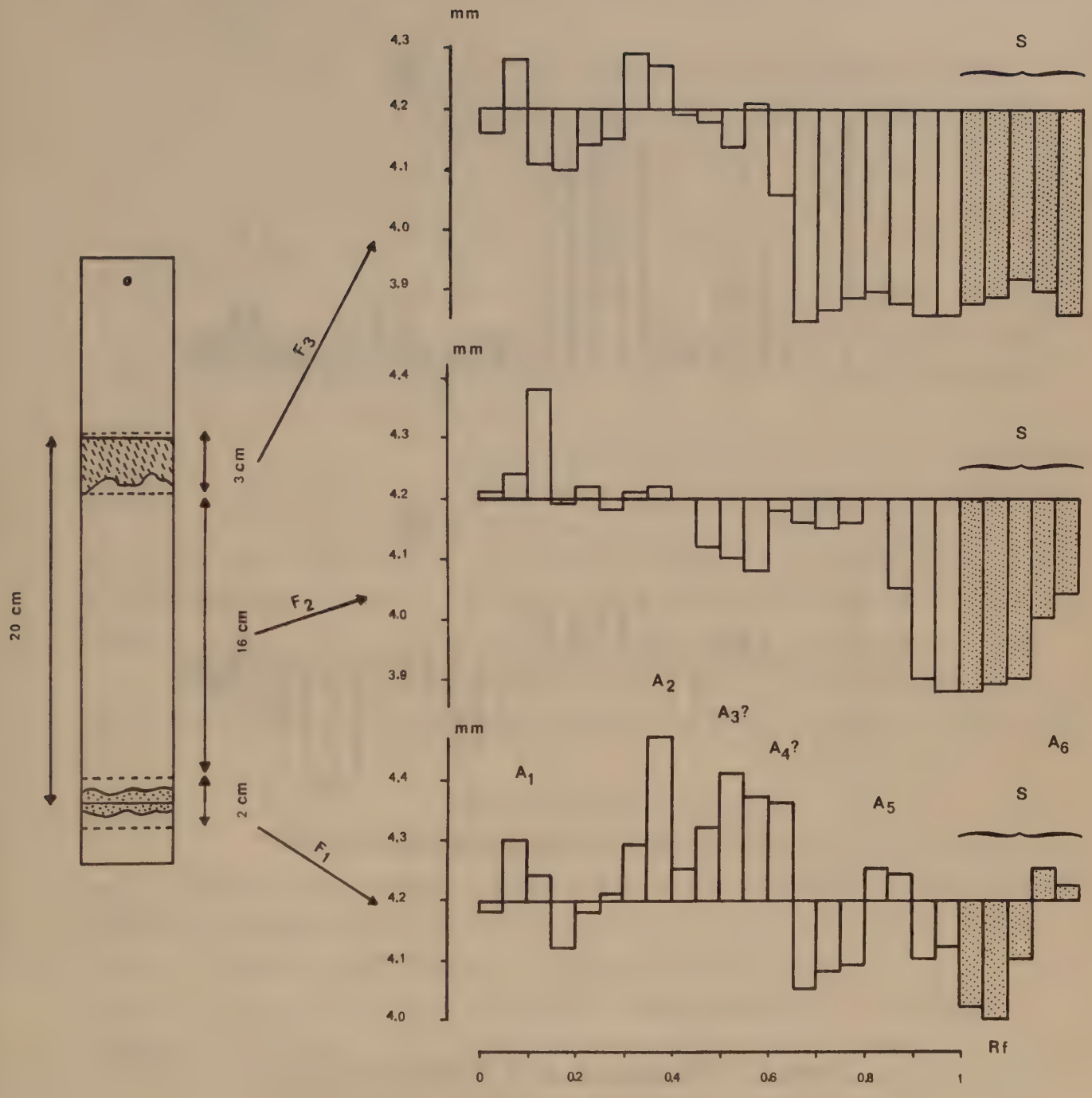


Figure 19 : Résultats du test mésocotyle sur les trois fractions (F_1, F_2 et F_3) du chromatogramme à l'hexane de Cystoseira stricta. (Test réalisé avec 2 grammes de poudre lyophilisée) - Même légende que pour la figure 14 -

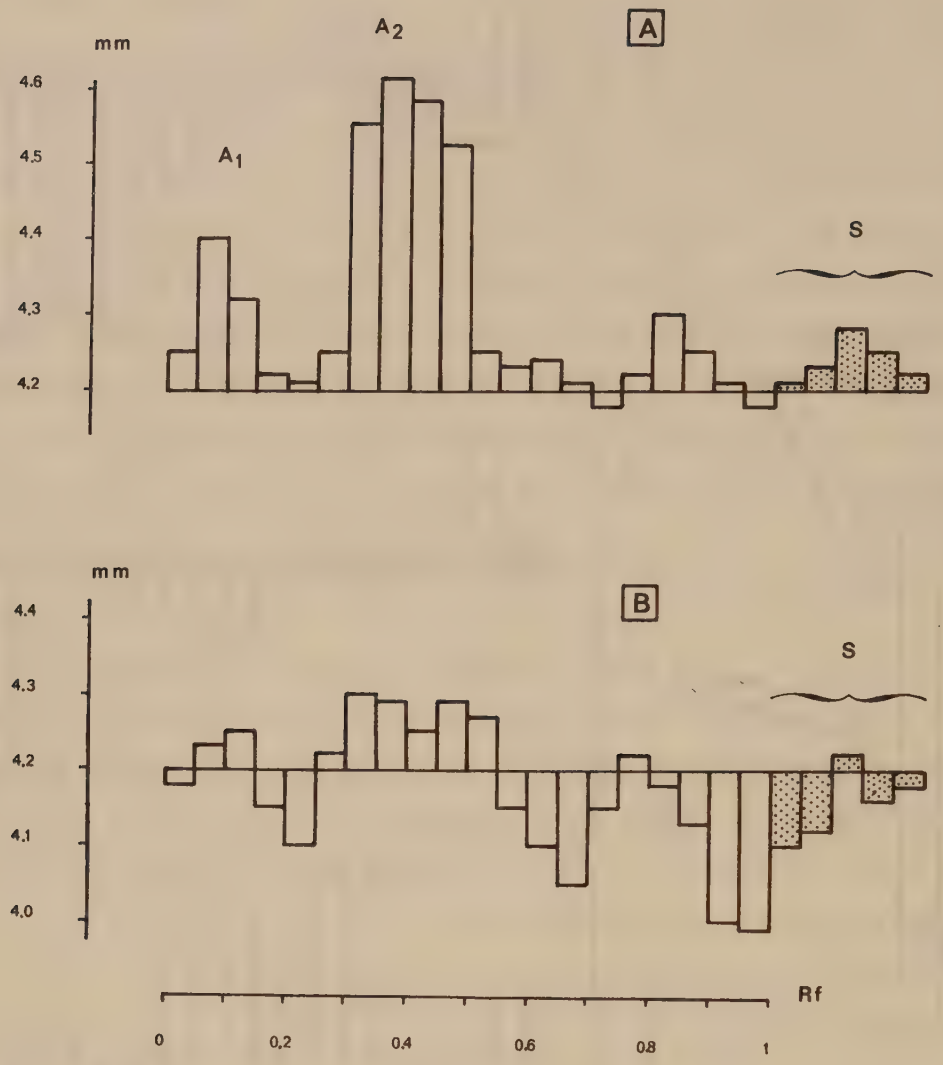


Figure 20 : Résultats du test mésocotyle sur des extraits de Cystoseira stricta. (A = extrait de 500 mg de poudre lyophilisée d'apex, B = extrait de 500 mg de poudre lyophilisée du reste du thalle. Même légende que pour la figure 14).

pas perdre de vue en effet que le test mésocotyle révèle également des substances de type gibbérellique).

- une activité apparaît au Rf 0,80 à 0,85 (A_5) en chromatographie sur papier ; à ce niveau on obtient une teinte rose brun au Gordon Weber et au Van Urk comme avec l'IA mais la fluorescence blanc bleuté au Prochazka et le volume d'élution ne sont pas caractéristiques de cette auxine ;
- enfin, on observe deux zones d'inhibition, l'une au Rf 0,55 à 0,75 en chromatographie sur papier (I_1), l'autre au Rf 0,9 à 1 (I_2) ;
- la zone des substances neutres est occupée par un inhibiteur (I_3) et un activateur (A_6). La chromatographie dans l'hexane révèle des inhibitions importantes dans les fractions 2 et 3. A_6 se retrouve dans la fraction 1 où il semble avoir perdu une partie de son activité.

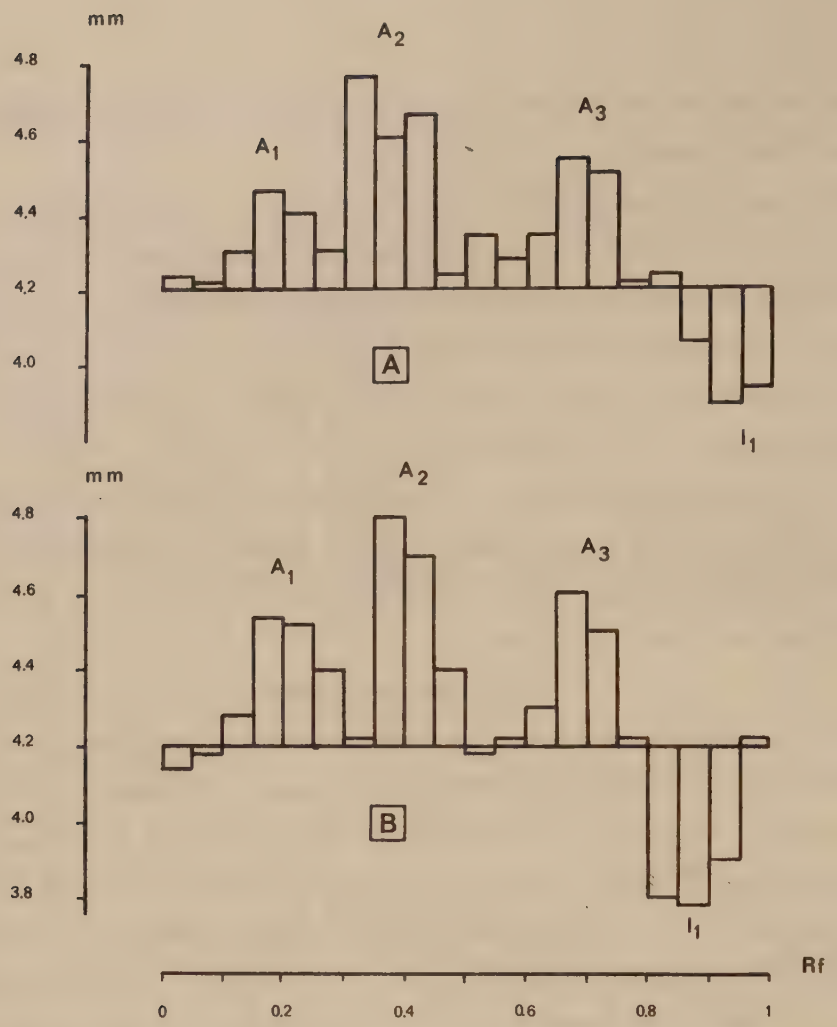
D'autres expériences ont été réalisées avec Cystoseira stricta. La croissance en longueur de cette algue est assurée, comme chez les autres Sargacées, par une zone méristématique proche du sommet. J'ai isolé cette région comprenant le méristème de croissance proprement dit et l'apex et réalisé des analyses avec des extraits de ces sommets ainsi qu'avec le restant du thalle. Les tests mésocotyles (fig. 20) révèlent que les sommets sont plus riches en auxines que le reste du thalle et plus particulièrement en AIA. On note également que les deux inhibiteurs ne se manifestent pratiquement pas dans les extraits d'apex (fig. 20, A).

b) Dictyopteris membranacea

Cette algue a été récoltée à des périodes différentes de l'année, en deux localités éloignées et dans des biotopes dissemblables. Le premier lot analysé provient d'une récolte faite le 3 mai 1966 à proximité de la calanque de Sugiton entre Marseille et Cassis (Bouches-du-Rhône), par 20 mètres de fond, en bordure d'un peuplement sciaphile à Udotea petiolata et Peyssonnelia squamata (AUGIER et al. 1968). Le deuxième lot a été prélevé le 9 mars 1968 au Cap d'Antibes (Alpes-Maritimes), à un mètre de profondeur, dans un microbiotope sciaphile de surface. La longueur moyenne des thalles était de 91 mm pour le premier lot, de 102 mm pour le second. Les deux lots de poudre lyophilisée ont été analysés séparemment à l'aide du test mésocotyle, l'épreuve des tests biochimiques n'étant appliquée qu'au premier (A).

Les analyses ont permis de mettre en évidence (fig. 21) :

- un activateur A_1 au Rf du tryptophane qui donne la coloration caractéristique de ce composé indolique avec les réactifs biochimiques ;



C P	G W	+	□	+
	P	+	+	+
C C M	S	+	□	□
	P	+	+	+
Ve		+	+	□

Figure 21 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire sur des extraits de Dictyopteris membranacea. (Les tests biologiques ont été réalisés avec un extrait de 500 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 250 grammes. Même légende que pour la figure 14. A = premier lot récolté dans la calanque de Sugiton, B = deuxième lot récolté au Cap d'Antibes. Dosages (ils ont été réalisés seulement sur le lot A) : A_1 = 7,5 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_2 = 25 microgrammes/Kg, A_3 = 9 microgrammes/Kg).

- un activateur A_2 au Rf de l'AIA donnant une fluorescence jaune au Prochazka, caractéristique de l'AIA et une teinte rosée à bordure jaunâtre, assez pâle, qui n'apparaît qu'au bout d'une heure avec le Salkowski et le Gordon Weber. La quantité de poudre disponible n'a pas permis de réaliser des tests complémentaires de sorte qu'il est impossible d'affirmer que A_2 représente l'AIA. L'extrait étant particulièrement riche en substances qui gênent l'analyse, il a fait l'objet de manipulations plus longues que les autres, qui auraient pu provoquer une altération de l'AIA qu'il contenait éventuellement ;
- un activateur à Rf 0,70 donnant une teinte rose violacé au Salkowski et au Gordon Weber et blanc jaunâtre au Prochazka avec les ultra-violets à 366 nm. Il pourrait donc s'agir de l'IAM qui a le même Rf et réagit de la même manière à l'égard des tests de coloration. Néanmoins le volume d'élution est différent et la fluorescence aux ultra-violets à 254 nm ne donne pas la teinte gris rougeâtre caractéristique au Prochazka. Des analyses complémentaires s'avèrent donc ici nécessaires ;
- une zone d'inhibition à proximité du front du solvant.

Il n'existe pas de différence importante entre les deux lots de poudre : on retrouve les mêmes substances sur les chromatogrammes.

c) Dilophus spiralis

La récolte a été effectuée le 23 mai 1965, dans la passe du Grand Gaou au Brusc (Var), à un mètre de profondeur, au sein d'un peuplement photophile de mode calme à dominance de Dictyotales (Dictyota dichotoma, Taonia stomaria, Dilophus fasciola, etc...). Les individus avaient une longueur moyenne de 80 mm. La poudre lyophilisée a été conservée jusqu'en novembre 1968.

La figure 22 montre que cette espèce possède, à ce stade de développement, trois activateurs de croissance et un inhibiteur :

- un premier activateur (A_1) au Rf 0,20 dans la chromatographie sur papier, qui donne la même teinte que le tryptophane avec les réactifs de Gordon Weber et de Prochazka ;
- un deuxième activateur (A_2) au Rf 0,35 qui donne les teintes caractéristiques de l'AIA avec les réactifs des composés indoliques et présente le même volume d'élution que celui de cette auxine ;
- un troisième activateur (A_3) au Rf 0,90 qui ne donne aucune coloration avec les réactifs des composés indoliques ;
- un inhibiteur (I_1) de nature inconnue dans la zone des substances neutres.

d) Halopteris scoparia

Cette algue a été récoltée à proximité de la calanque de Sugiton près de Marseille (Bouches-du-Rhône), le 24 août 1968, par trois

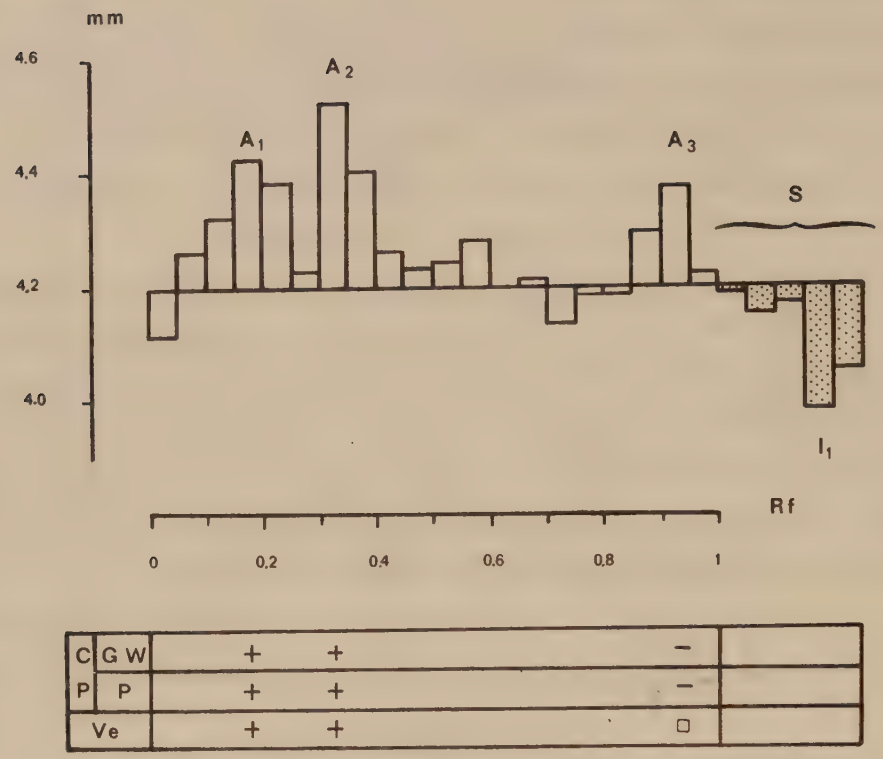
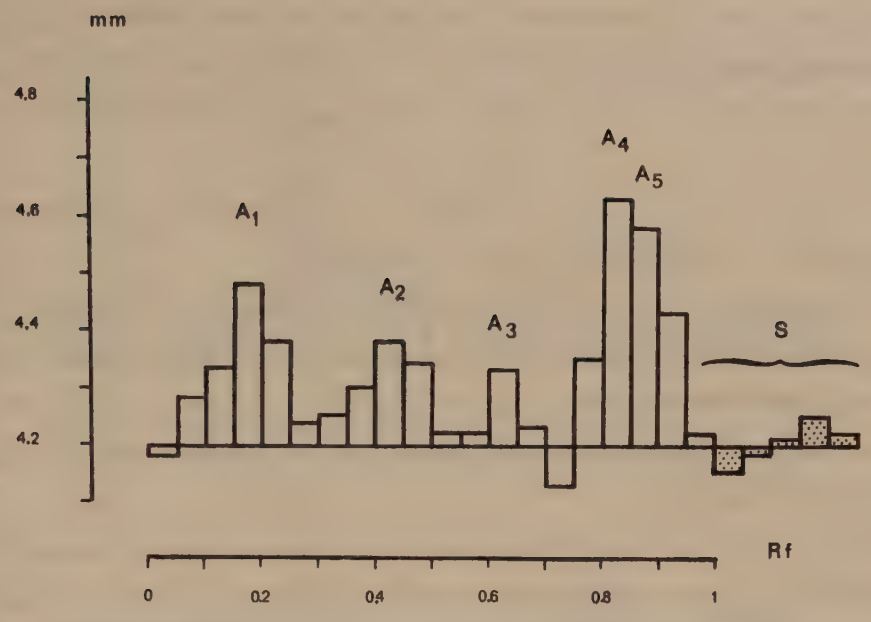


Figure 22 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire réalisés sur des extraits de Dilophus spiralis. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 100 mg de poudre lyophilisée et les tests biochimiques avec des extraits de 140 grammes. Même légende que pour la figure 14. Dosages : A_1 = 30 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_2 = 37 microgrammes/Kg, A_3 = 9 microgrammes/Kg).



C P	GW P	+	□	−	+ +	
C C M	S P VU	+	□	−	+ +	
Ve		+	□	□	+ +	

Figure 23 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire sur des extraits d'Halopteris scoparia. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 100 mg de poudre lyophilisée et les tests biochimiques avec un extrait de 100 grammes. Même légende que pour la figure 14. Dosages : A_1 = 45 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_4 = 120 microgrammes/Kg, A_5 = 105 microgrammes/Kg).

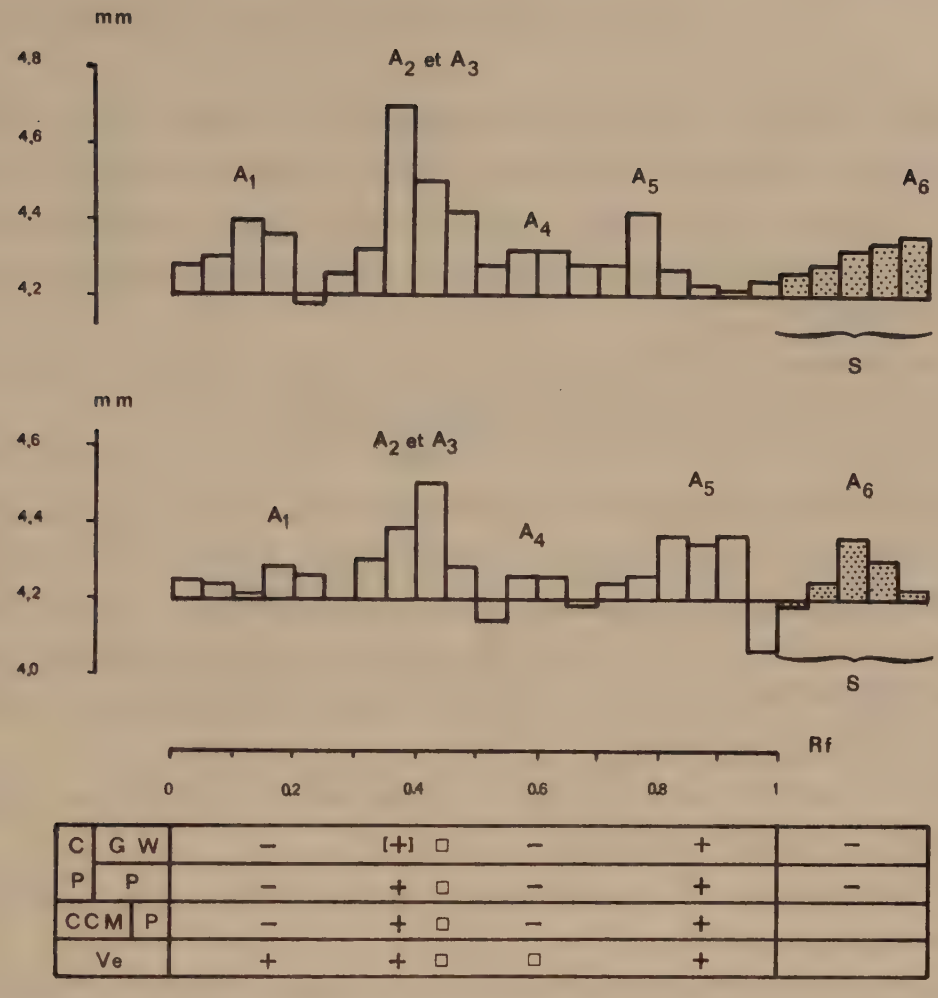
mètres de fond, dans un peuplement photophile de mode calme à Halopteris scoparia et Cladostephus verticillatus (AUGIER et al. 1967). Les individus avaient une longueur moyenne de 65 mm. La poudre lyophilisée a été conservée jusqu'au 2 juin 1969.

La figure 23 montre, chez cette algue, un nombre assez important de composés de nature indolique :

- un activateur A_1 aux Rf 0,20 dans la chromatographie sur papier et 0,25 dans la chromatographie sur couche mince avec le solvant AMIA. La position de cette substance sur les chromatogrammes et les teintes obtenues à l'aide des réactifs biochimiques sur les chromatogrammes papier ou en couche mince indiquent qu'il s'agit de tryptophane ;
- un activateur A_2 situé aux Rf 0,40 en chromatographie sur papier et 0,50 en chromatographie sur couche mince avec le solvant AMIA. Ces Rf sont assez voisins de ceux de l'AIA mais les teintes obtenues avec les réactifs habituels ne sont pas caractéristiques. Les colorations obtenues sont les mêmes que celles observées, aux mêmes Rf, pour les extraits de Cladophora laetevirens, Cladophora utriculosa et Codium fragile ;
- un activateur A_4 au Rf 0,80 en chromatographie sur papier et 0,85 en chromatographie sur couche mince avec le solvant AMIA. Tous les réactifs biochimiques donnent la teinte caractéristique de l'IAN. Par ailleurs le volume d'élution de l'activateur A_4 dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 est le même que celui de l'IAN ;
- un activateur A_5 qui, d'après les Rf et les teintes obtenues avec les divers réactifs, doit être considéré comme de l'IAE. Son volume d'élution dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 est d'ailleurs le même que celui de cette auxine ;
- il n'a pas été possible de déterminer la nature de la substance faiblement active (A_3), située au Rf 0,65 et qui ne donne aucune coloration avec les réactifs des composés indoliques ;
- on peut voir enfin qu'à ce stade de développement, Halopteris est pauvre en inhibiteur de croissance.

e) Padina pavonia

Cette espèce a été récoltée le 20 juin 1968 au Brusc (Var), à deux mètres de profondeur, dans un peuplement photophile de mode calme à Padina pavonia et Dilophus fasciola (AUGIER et al. 1971). Les algues ont été réparties en deux lots : celles du premier avaient une longueur moyenne de 32 mm et celles du second 75 mm. Les tests mésocotyles ont été réalisés sur les deux lots


mm
4,8
4,6
4,4
4,2
A1
A2 et A3
A4
A5
A6
S
mm
4,6
4,4
4,2
4,0
A1
A2 et A3
A4
A5
A6
S
Rf
0
0,2
0,4
0,6
0,8
1
C
G W
P
P
CCM
P
Ve
−
[+]
+
−
+
−
−
−
+
+
+

(figure 24), les tests biochimiques n'ont été réalisés que sur le deuxième (B) qui était plus abondant.

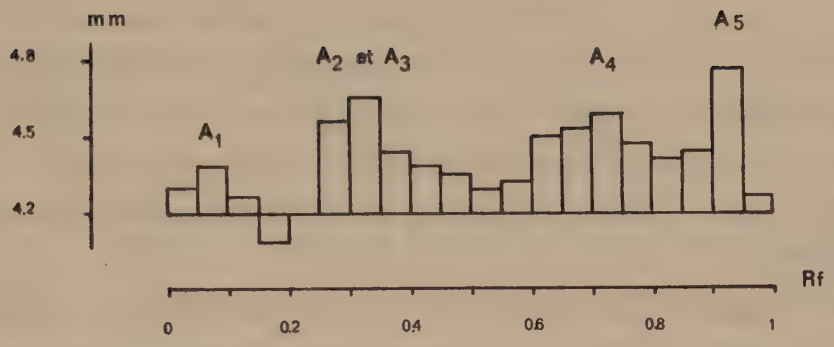
Divers activateurs s'observent chez cette algue (figure 24) :

- un activateur A_1 au Rf 0,1 à 0,2 en chromatographie sur papier ; cet activateur est présent dans les deux lots. Les tests biochimiques n'ont donné aucune coloration dans le cas du lot de Padines âgées. D'après le Rf, il pourrait s'agir du tryptophane qui se trouverait en quantité trop faible pour être révélable par les tests biochimiques ;
- une zone d'activité au Rf 0,30 à 0,50. Cette zone donne des résultats différents avec les réactifs biochimiques selon la fraction considérée :
  - la fraction éluée des colonnes de gel de SEPHADEX LH 20 avec 310 ml de méthanol (A_2) se colore, après chromatographie sur papier, en rose pâle à peine visible au Gordon Weber et jaune très clair au Prochazka, ceci à partir d'un extrait de 20 g de poudre lyophilisée. Il pourrait donc s'agir d'AIA qui, en trop faible quantité, donnerait des teintes à peine perceptibles. Cette hypothèse est plausible puisqu'avec un extrait de 48 g d'algue le réactif de Prochazka donne la teinte jaune vif caractéristique ;
  - la fraction éluée avec 760 ml de méthanol (A_3) ne donne pas de teintes caractéristiques avec les réactifs habituels ;
- un activateur faible (A_4), au Rf 0,60, qui ne semble pas de nature indolique (tests biochimiques négatifs) ;
- un activateur A_5 dont le Rf en chromatographie sur papier (0,80), le volume d'élution (710 ml) et les teintes aux réactifs biochimiques (bleu au Gordon Weber et violet orangé clair au Prochazka) sont caractéristiques de l'IAN ;
- enfin un activateur A_6 de nature inconnue dans la zone des substances neutres.

Notons qu'il n'existe pratiquement pas d'inhibiteur chez les jeunes Padines, tandis que les Padines plus âgées fournissent des chromatogrammes présentant des substances faiblement inhibitrices aux Rf 0,55 et 0,95.

f) Petalonia fascia

Les algues ont été récoltées le 9 mars 1968 à proximité du Graillon au Cap d'Antibes (Alpes-Maritimes), entre 20 et 40 cm de profondeur. Le peuplement était composé essentiellement de Petalonia fascia avec quelques îlots de Scinaïa furcellata et quelques pieds d'Ulva lactuca ; nous n'avons pas trouvé ni Corallina officinalis, ni Erythrotrichia ciliaris qui sont caractéristiques également de l'association à Petalonia fascia décrite à Banyuls par FELDMANN (1937). Comme à Banyuls, le milieu était pollué par la proximité de deux égouts. Les thalles



C P	G W	−		+	−		−		+	
	P	−		+	−		−		+	
	D	−		+	−		−		+	
Ve		□		+	□		□		+	
SPECTRO				+						

Figure 25 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire sur des extraits de Petalonia fascia. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 300 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 150 grammes. Même légende que pour les figures 14 et 17. Dosages : A_1 = 5 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_2 = 26,5 microgrammes/Kg, A_4 = 26 microgrammes/Kg, A_5 = 33 microgrammes/Kg).

avaient une longueur moyenne de 15 cm.

Petalonia fascia renferme, à ce stade de développement, les activateurs suivants (fig. 25) :

- un activateur A_1 au Rf 0,1 de faible importance, et ne donnant aucune coloration bien nette avec les réactifs de Gordon Weber, Prochazka et DMACA ;
- un activateur A_2 au Rf 0,30 donnant les couleurs rose avec le réactif de Gordon Weber, jaune vif avec le Prochazka et mauve bleuâtre avec le DMACA, ces couleurs sont caractéristiques de l'AIA. Cette zone présente également un autre activateur (A_3) révélé par les tests des gibbérellines et dont l'activité se superpose à celle de l'auxine dans le test mésocotyle (voir plus loin) ;
- un activateur A_4 au Rf 0,70 de nature non indolique semble-t-il (tests biochimiques négatifs) ;
- un activateur A_5 au Rf 0,90 donnant avec les trois réactifs utilisés les teintes caractéristiques de l'IAE (mauve, orangé clair, mauve foncé respectivement avec le Gordon Weber, le Prochazka et le DMACA).

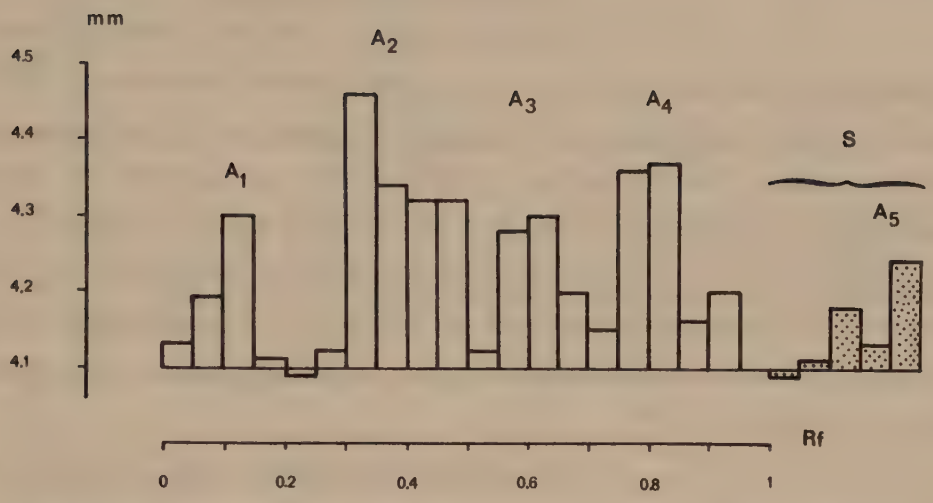
On ne décèle pratiquement pas d'inhibiteur de croissance.

g) Scytosiphon lomentaria

Cette espèce a été récoltée le 8 janvier 1970 sur le flanc externe de la jetée du port de Saint Mandrier (Var), où elle se trouvait seule formant, au niveau de l'eau, un peuplement en ceinture caractéristique. La croissance de cette algue est extrêmement rapide : j'ai eu plusieurs fois la surprise de la voir recouvrir en quelques jours seulement les rochers de nos côtes. Les Scytosiphons prélevés à Saint Mandrier étaient encore en pleine croissance puisque leur longueur moyenne atteignait à peine 11,5 cm.

Les analyses ont permis de mettre en évidence les substances suivantes (fig. 26) :

- un activateur A_1 au Rf 0,15 en chromatographie sur papier donnant des teintes jaune clair avec le réactif de Gordon Weber et jaune bistre avec le Prochazka ; ceci ne permettant pas de l'assimiler avec certitude au tryptophane ;
- un activateur A_2 au Rf 0,35 qui se colore en rose pâle avec le Gordon Weber et donne avec le Prochazka une coloration jaune assez vive fluorescente ; ces caractères sont ceux de l'AIA ;
- trois autres activateurs aux Rf 0,60 (A_3), 0,80 (A_4) et dans la zone des substances neutres (A_5). Ces substances ne réagissent pas avec les réactifs des composés indoliques à l'exception de A_4 qui donne une teinte non caractéristique avec le Gordon Weber et le Prochazka (teinte très voisine de l'IAE).



C P	G W	+	+	−	[+]	−
	P	□	+	−	[+]	−
CCM	P	[+]	+	−	[+]	
Ve		+	+		□	

Figure 26 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire sur des extraits de Scytosiphon lomentaria. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 250 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 150 grammes. Même légende que pour la figure 14. Dosages : A_1 = 2 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_2 = 10,2 microgrammes/Kg, A_3 = 3,5 microgrammes/Kg, A_4 = 4,2 microgrammes/Kg, A_5 = 1,1 microgramme/Kg).

Les chromatogrammes n'ont pas montré de substances inhibitrices.

3°) Rhodophycées

a) Botryocladia botryoïdes

Deux récoltes ont été réalisées au Brusc (Var) dans des peuplements sciaphiles superficiels de mode battu comportant, outre les Botryocladia : Valonia utricularis, Plocamium vulgare et Petroglossum nicaeense. La première récolte a été faite le 15 janvier 1965, la seconde le 18 mars 1970. Les algues avaient en moyenne 18 mm de long en 1965 et 22 mm en 1971.

La méthode expérimentale utilisée en 1965 comportait le traitement de la poudre lyophilisée au méthanol, la chromatographie sur papier à deux solvants, le test mésocotyle et enfin quatre tests de révélation biochimique des composés indoliques.

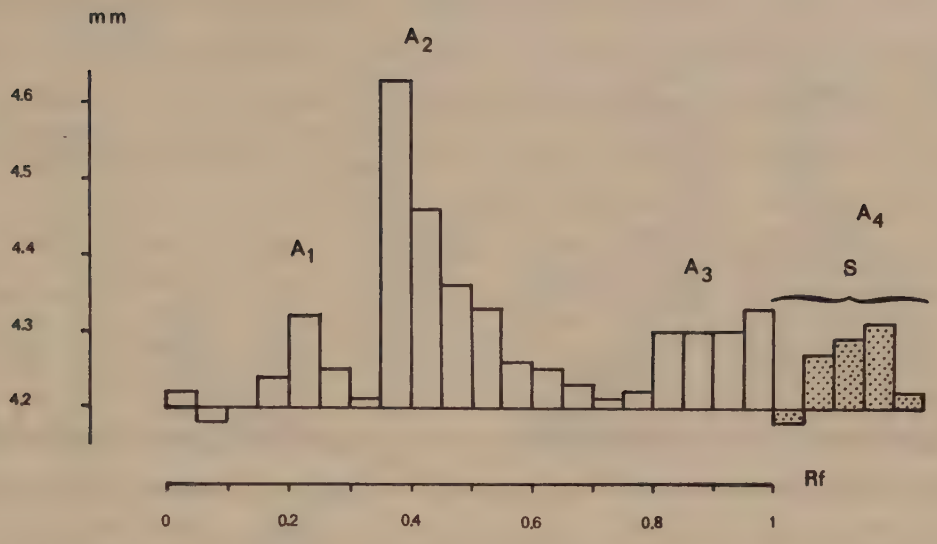
Ces techniques avaient révélé la présence des substances suivantes (fig. 27) :

- un activateur A_1 au Rf 0,20 donnant les réactions colorées caractéristiques du tryptophane avec les réactifs de Gordon Weber, Ehrlich, Prochazka et DMACA ;
- un activateur A_2 au Rf 0,35 qui donne les colorations caractéristiques de l'AIA avec les quatre réactifs utilisés ;
- un activateur A_3 à proximité du front du premier solvant (Rf 0,85), qui ne se colore pas avec les réactifs utilisés ;
- un activateur A_4 dans la zone des substances neutres, qui ne semble pas de nature indolique (tests biochimiques négatifs).

Des expériences réalisées sur la récolte de 1970, avec la méthode d'analyse habituelle ont permis de confirmer les résultats de 1965 en mettant en évidence (fig. 28) :

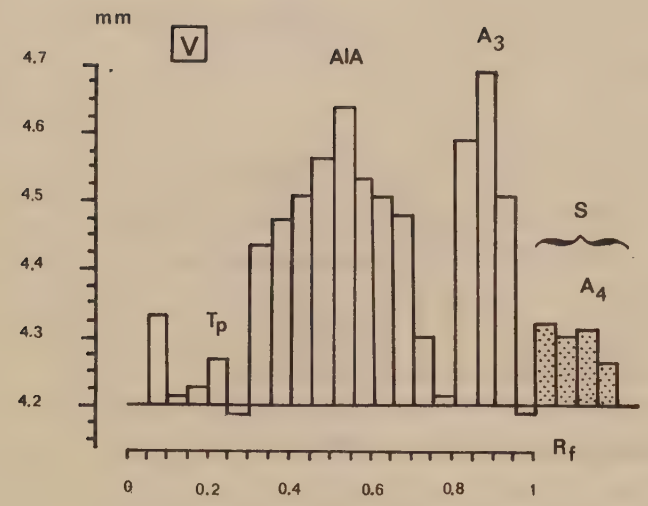
- les deux composés indoliques (A_1 et A_2) déjà identifiés en 1965 et assimilables au tryptophane (Tp) et à l'AIA d'après leur volume d'élution, leur Rf et les teintes obtenues avec les réactifs de Gordon Weber, Salkowski et Prochazka ;
- un troisième composé indolique dont les teintes aux réactifs biochimiques et le Rf indiquent qu'il pourrait s'agir de l'IAM (A_5) ;
- enfin les deux composés A_3 et A_4 ne donnant aucune coloration avec les réactifs des composés indoliques : l'un est localisé au front du solvant, l'autre dans la zone des substances neutres.

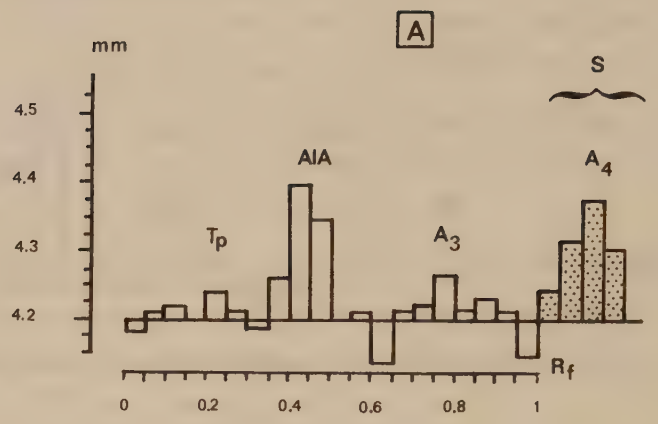
Ces expériences mettent également en évidence des différences importantes dans la répartition de ces substances au sein du thalle de

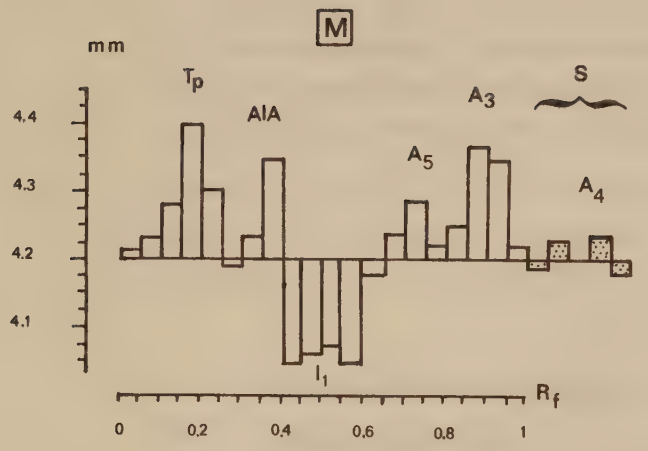


CP	G W	+	+	−	−
	E_1	+	+	−	−
	E_2	+	+	−	−
	D	+	+	−	−
	P	+	+	□	−
CCM	P	+	+	□	
Ve		+	+	□	
SPECTRO			+		

Figure 27 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire sur des extraits de Botryocladia botryoïdes. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 200 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 50 grammes. Même légende que pour les figures 14 et 17. E_1 = réactif d'Ehrlich, E_2 = réactif d'Ehrlich au nitrite. Dosages : A_1 = 10 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_2 = 150 microgrammes/Kg).







Dosages (microgrammes/Kg d'algue fraîche) :

	AIA	A_1	A_2	A_3	Tp
Axes	30	5	25	-	-
Mucilage	20	30	4	5	25
Vésicules vides	350	225	35	-	10

Figure 28 : Résultats du test mésocotyle sur des extraits de Botryocladia botryoïdes. (Les tests ont été réalisés avec des extraits de 200 mg de poudre lyophilisée préparés à partir des axes (A), du mucilage (M) et des vésicules vides (V). Même légende que pour la figure 14.

Botryocladia botryoïdes. L'algue est constituée par des axes cylindriques à ramifications irrégulières portant de nombreux rameaux courts en forme de vésicules brièvement pédicellés (ce sont ces rameaux courts qui ont donné à cette espèce le nom courant de "raisin de mer"). Les axes ont une structure parenchymateuse tandis que les vésicules sont creuses et remplies d'une masse mucilagineuse. Axes (A), vésicules (V) et mucilage (M)* ont fait l'objet d'analyses séparées (fig. 28).

L'AIA, présent partout, se trouve à une concentration plus élevée dans les parois des vésicules que dans les autres parties du thalle. Ce résultat est à rapprocher de celui obtenu par VAN DER WEIJ (1933) sur l'algue verte Valonia macrophysa qui présente un mucilage interne nettement moins riche en substances de croissance que le reste du thalle. Les analyses sur Botryocladia montrent d'autre part que le taux de tryptophane est plus important dans le mucilage que dans les vésicules vides et les axes, du moins à ce stade de développement. En ce qui concerne les composés non indoliques, il s'avère que les parois vésiculaires et le mucilage sont plus riches en activateur A_3 que les axes, le contraire s'observant pour l'activateur A_4.

Signalons enfin l'existence, dans le mucilage seulement, d'un inhibiteur (I) non encore signalé chez Botryocladia botryoïdes ainsi que la présence d'un activateur (A_5) de nature indolique qui ne peut encore être assimilé avec certitude à l'IAM.

b) Laurencia obtusa

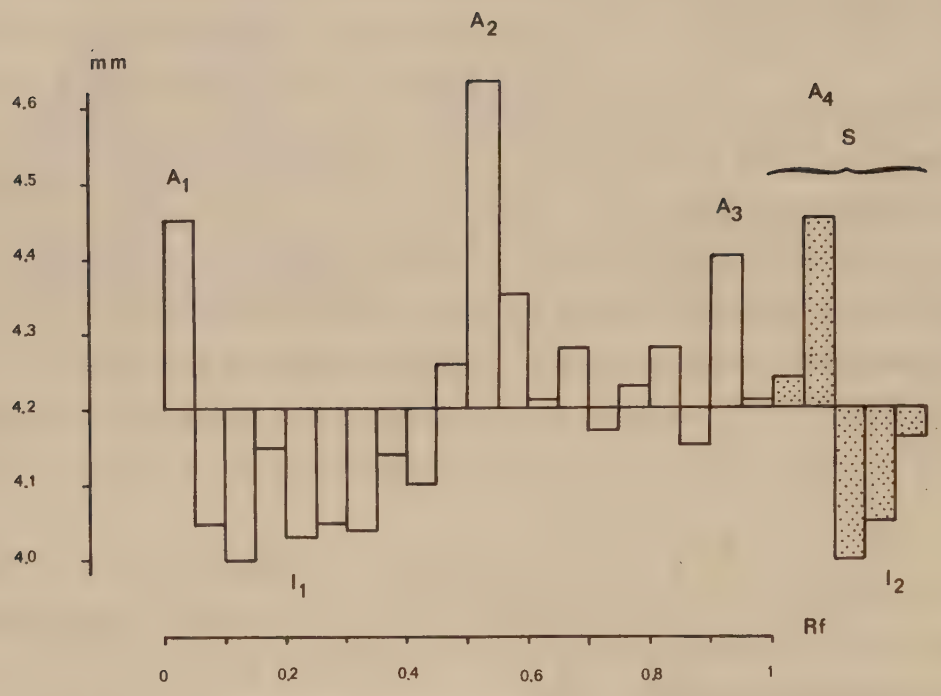
Cette espèce a été récoltée à Carro (Bouches-du-Rhône) le 6 juin 1964 dans le Cystoseiratum crinitae (MOLINIER 1958) entre la surface et 30 cm de profondeur. Les échantillons avaient une longueur moyenne de 43 mm.

La poudre lyophilisée a été analysée selon notre méthode de 1965 et n'a fait depuis l'objet d'aucune autre épreuve en sorte que les substances révélées par le test mésocotyle n'ont pu être étudiées en détail. L'histogramme (Fig. 29) résultant de cette épreuve montre que cette espèce contient les substances suivantes :

- un activateur de croissance A_1 à proximité de la ligne de dépôt ne donnant aucune teinte avec les réactifs biochimiques à l'exception du DMACA qui fait apparaître une coloration non caractéristique ;

---

* Pour extraire le mucilage, les vésicules sont pressées dans un mortier en présence de méthanol ; on sépare ainsi, d'une part, les vésicules vides, réduites à leur paroi et, d'autre part, le mucilage qui est mis en suspension dans le solvant.



C P	G W	–	–	–	–
	E	–	–	–	–
	D	□	□	–	–
	P	–	(+)	–	–

Figure 29 : Résultats du test mésocotyle (histogramme) et des tests biochimiques sur des extraits de Laurencia obtusa. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 2 g de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 4 g. Même légende que pour la figure 14. Dosages : A_1 = 0,25 microgramme/Kg d'algue fraîche, A_2 = 9 microgrammes/Kg, A_3 = 0,2 microgramme/Kg, A_4 = 0,25 microgramme/Kg).

- un activateur A_2, au Rf 0,40, voisin de celui de l'AIA ; les réactifs de Gordon Weber et d'Ehrlich fournissent des résultats négatifs, le DMACA provoque une légère coloration non caractéristique tandis que le Prochazka confère à la substance une fluorescence jaune très clair qui rappelle celle de l'AIA. Il pourrait donc s'agir d'AIA mais la concentration ne serait pas suffisante pour permettre une révélation à l'aide des réactifs biochimiques qui sont beaucoup moins sensibles que le test biologique ;
- deux activateurs, l'un au Rf 0,80 (A_3), l'autre dans la zone des substances neutres (A_4), tous deux sont de nature inconnue (tests biochimiques négatifs) ;
- enfin deux inhibiteurs, l'un dans la zone des substances neutres (I_2), l'autre entre le Rf 0,1 et 0,35 (I_1).

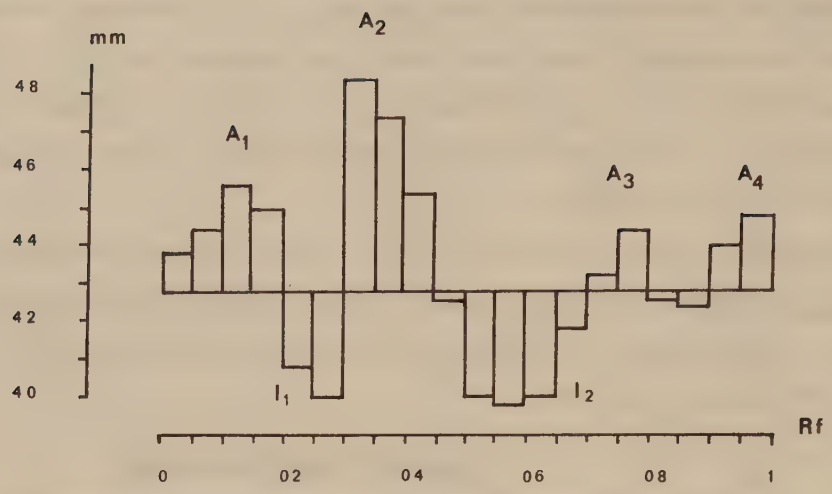
c) Lithothamniun calcareum

Les échantillons analysés m'ont été aimablement fournis par l'usine de Lorient de la Société LEMAIRE ; ils provenaient des bancs de maerl proches des Iles de Glénan dans le sud de la Bretagne. Quatre lots différents de Lithothamniun calcareum ont été analysés : des algues vivantes, la poudre CALMAGOL utilisée comme engrais, des algues prélevées dans la chaine de fabrication industrielle du CALMAGOL avant pulvérisation et enfin des échantillons de Lithothamniun morts récoltés dans des bancs de maerl, en Bretagne.

Les expériences réalisées avec la poudre lyophilisée préparée à partir d'algues vivantes ont permis de mettre en évidence les substances suivantes (fig. 30) :

- un activateur A_1 au Rf 0,20 donnant, avec les réactifs biochimiques utilisés, la teinte caractéristique du tryptophane aussi bien en chromatographie sur papier que sur couche mince ;
- un activateur A_2 au Rf 0,35 donnant les teintes caractéristiques de l'AIA avec tous les réactifs biochimiques employés dans les deux types de chromatographie ;
- deux autres substances stimulantes plus faiblement actives, la première (A_3) au Rf 0,75 - 0,80 en chromatographie sur papier et la seconde (A_4) au Rf 0,90 - 1, qui ne se colorent pas avec les réactifs biochimiques utilisés ;
- deux inhibiteurs (I_1 et I_2) de nature inconnue localisés respectivement aux Rf 0,25 et 0,55.

La figure 31 indique les résultats obtenus avec les autres lots de poudre. Le test mésocotyle montre que les teneurs en tryptophane et en AIA décroîssent progressivement du Lithothamniun vivant au maerl, en passant successivement par le Lithothamniun prétraité et le CALMAGOL. Par contre les inhibiteurs ne disparaissent pas.



C P	GW	+	+	–	–
	P	+	+	–	–
	E	+	+	–	–
	D	+	+	–	–
C C M	S	+	+	–	–
	VU	+	+	–	–
Ve		+	+		

Figure 30 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire sur des extraits de Lithothamniun calcareum. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 5 grammes de poudre lyophilisée et les tests biochimiques avec des extraits de 600 grammes. Même légende que pour la figure 14. Dosages : A_1 = 1 microgramme/Kg de poudre lyophilisée, A_2 = 5 microgrammes/Kg, A_3 = 0,4 microgramme/Kg, A_4 = 0,5 microgramme/Kg).

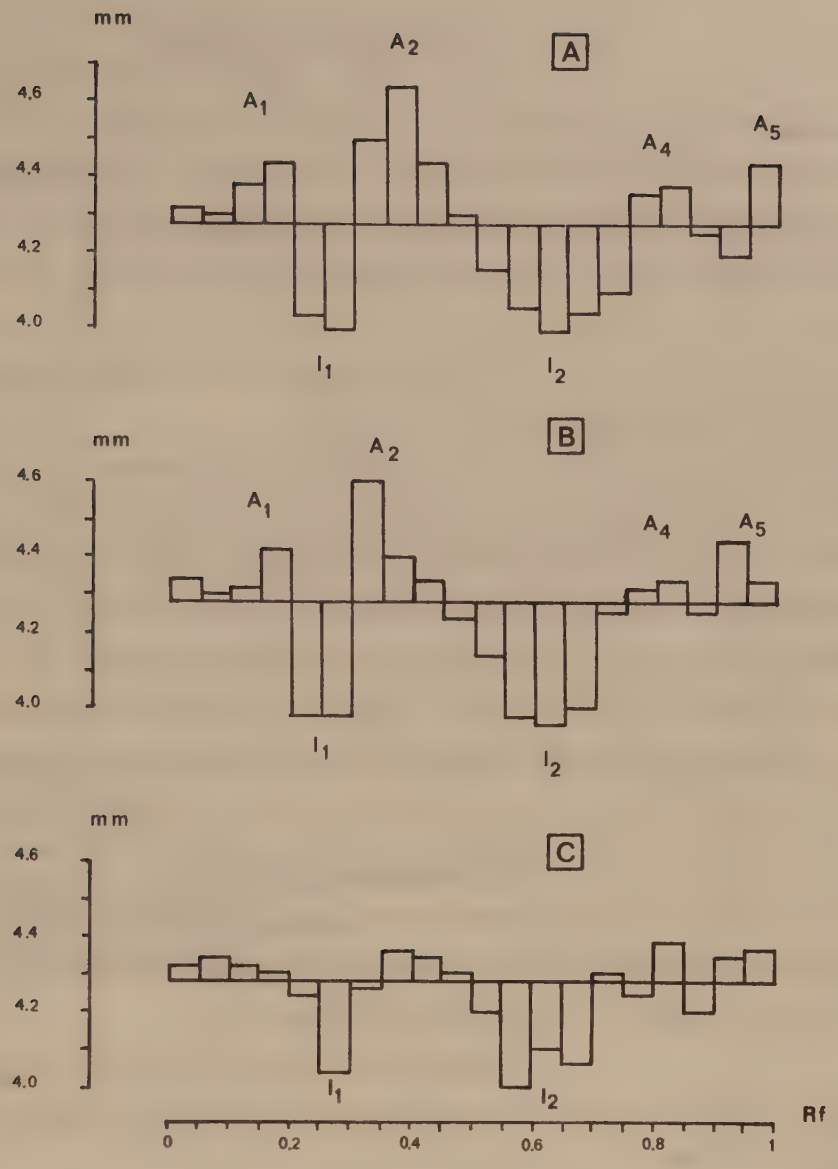


Figure 31 : Résultats du test mésocotyle sur le Litho-thamniun prélevé dans la chaîne de fabrication du CALMAGOL avant pulvérisation (A), le CALMAGOL (B) et le maërl (C). (Chaque test a été réalisé avec 5 grammes de poudre. Même légende que pour la figure 14).

Dosages :

A : A_1 = 0,8 microgramme/Kg de poudre,
A_2 = 3 microgrammes/Kg

B : A_1 = 0,5 microgramme/Kg
A_2 = 2,5 microgrammes/Kg

C : non déterminable

d) Pterocladia capillacea

Cette espèce a été récoltée le 8 mai 1971 dans la banlieue marseillaise, entre le Cap Croisette et Callelongue (Bouches-du-Rhône), dans un peuplement sciaphile superficiel de mode battu à Gymnogongrus norvegicus, Valonia utricularis, Gelidium latifolium et Cladophora pellucida (AUGIER at al. 1971). Les individus, d'une longueur moyenne de 40 mm, étaient encore en pleine croissance.

L'histogramme (fig. 32) révèle, chez cette espèce, la présence des substances suivantes :

- un activateur A_1 au Rf 0,10 en chromatographie sur papier et avec lequel les réactifs des composés indoliques fournissent des résultats négatifs ;
- un activateur A_2 au Rf 0,35 en chromatographie sur papier donnant les teintes caractéristiques de l'AIA avec les réactifs de Gordon Weber, Prochazka et DMACA et présentant un volume d'élution également caractéristique de l'AIA ;
- un autre activateur (A_3) au Rf 0,80 - 0,85 qui se colore avec les réactifs des composés indoliques mais dont la teinte n'est pas caractéristique d'une auxine connue.

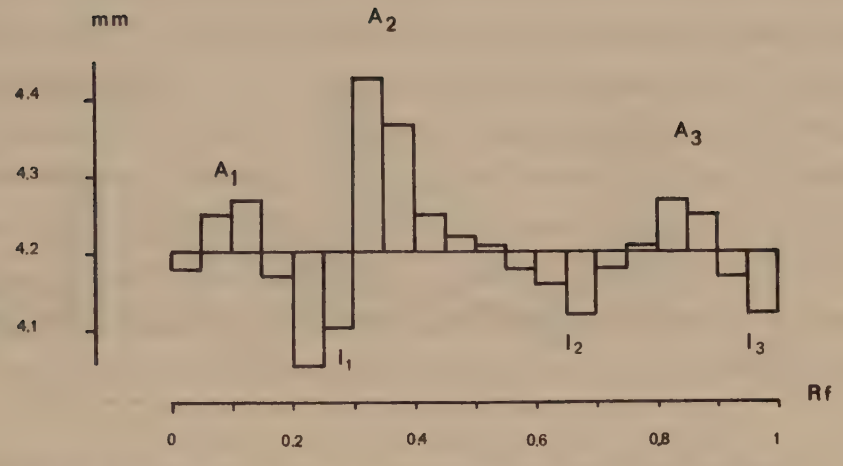
e) Rissoella verruculosa

Comme pour Laurencia obtusa, il s'agit ici également d'une expérience ancienne qui n'a pas été reprise avec la nouvelle méthode d'analyse mais qu'il est néanmoins intéressant de rappeler.

Récoltés le 10 mars 1964, dans le Nemalio-Rissoelletum verruculosa (AUGIER et al. 1967), au Brusc (Var), les individus avaient une longueur moyenne de 38 mm.

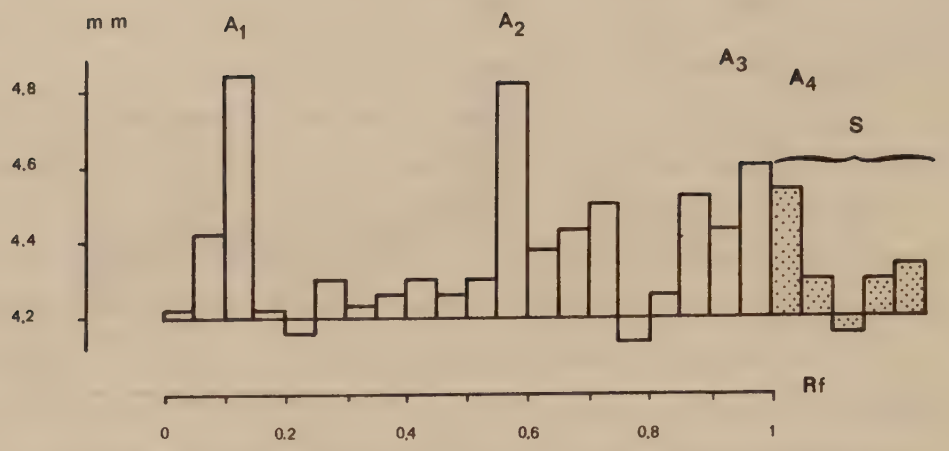
Cette espèce parait contenir pratiquement que des activateurs de croissance, du moins au stade de développement considéré. L'examen de la figure 33 indique la présence des substances suivantes :

- un activateur A_1 au Rf 0,15 dont la position sur le chromatogramme correspond au tryptophane. Cependant les réactifs de Gordon Weber et d'Ehrlich ne fournissent aucune coloration tandis que celui de Prochazka et le DMACA ne provoquent qu'une légère coloration non caractéristique ;
- un activateur A_2 au Rf de l'AIA, qui ne se colore pas avec le réactif de Gordon Weber et le réactif d'Ehrlich tandis que le Prochazka et le DMACA donnent de faibles colorations qui ne sont pas suffisantes pour assimiler A_2 à l'AIA ;
- deux autres substances, l'une (A_3) au voisinage du front du solvant, l'autre (A_4) dans la zone des substances neutres. On ne note aucune coloration avec les réactifs biochimiques dans la zone du chromatogramme occupée par ces deux substances.



C P	G W	–	+	□
	P	–	+	□
	D	–	+	□
CCM	P	–	+	□
Ve		□	+	□

Figure 32 : Résultats du test mésocotyle (histogramme), des tests biochimiques et de la filtration moléculaire sur des extraits de Pterocladia capillacea. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 1 gramme de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 300 grammes. Même légende que pour la figure 14. Dosages : A_1 et A_3 = 0,3 microgramme/Kg d'algue fraîche, A_2 = 6 microgrammes/Kg).



C P	G W	−	−	−	−
	E	−	−	−	−
	D	□	(+)	−	−
	P	□	+	□	−

Figure 33 : Résultats du test mésocotyle (histogramme) et des tests biochimiques sur des extraits de Rissoella verruculosa. (Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 1 gramme de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 4 grammes. Même légende que pour les figures 14 et 17. Dosages : A_1 = 3,5 microgrammes/Kg d'algue fraîche, A_2 = 4 microgrammes/Kg).

II. - GIBBERELLINES

Les résultats ont été transcrits, comme pour les auxines, sous forme d'histogrammes pour les tests biologiques et de tableaux indiquant les fluorescences pour les tests biochimiques.

Les dosages sont exprimés par comparaison de la croissance du tissu utilisé (feuille embryonnaire d'avoine, hypocotyle de laitue, gaines des feuilles de maïs nain) avec celles provoquées par une gamme de concentrations connues de GA_3 : 1, 3, 10, 30 et 100 microgrammes par litre. D'abord calculées par rapport à la quantité de poudre lyophilisée, les concentrations sont finalement exprimées en fonction du poids de matière fraîche (algue vivante) en tenant compte de la quantité d'eau recueillie dans les pièges du lyophilisateur. Comme pour les auxines, les variables entrant en jeu dans le calcul des concentrations sont trop nombreuses pour espérer obtenir des valeurs d'une grande précision ; les résultats des dosages ne sont donc donnés qu'à titre purement indicatif.

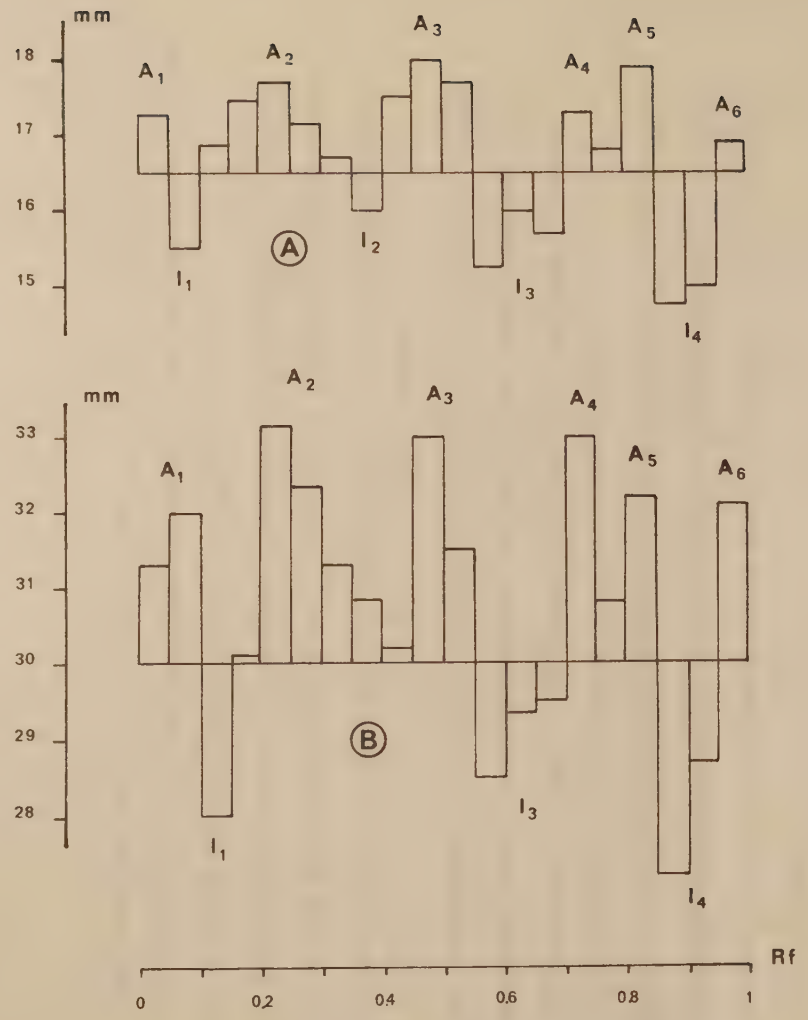
1°) Chlorophycées

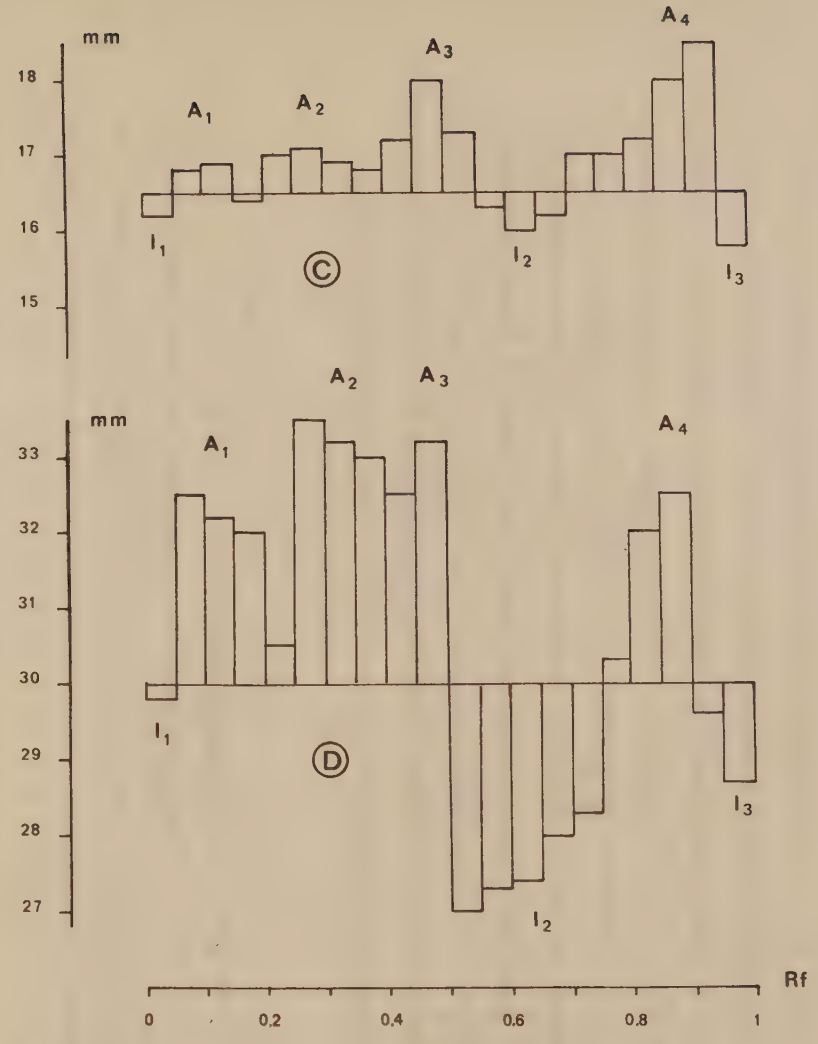
a) Caulerpa prolifera

Cette espèce a été récoltée le 24 novembre 1968 au Cap d'Antibes (Alpes-Maritimes) dans les prairies sous-marines qu'elle forme sur fond sablo-vaseux entre 10 et 100 cm de profondeur (longueur moyenne des "stolons": 154 mm, des "frondes" : 52 mm).

La fraction acétate d'éthyle (A et B fig. 34) contient les substances suivantes :

- un activateur A_1 donnant une fluorescence mauve sous la rampe à ultra-violets avec le réactif biochimique méthanol-acide sulfurique mais présentant, par ailleurs, dans les deux types de chromatographies, un Rf différent de celui des gibbérellines de référence (Cf. tableaux 5 et 6) ;
- un activateur A_2 présentant la même fluorescence mauve sous la rampe à ultra-violets que le précédent (avec le même réactif) et un Rf ne permettant pas non plus de l'assimiler aux gibbérellines de référence dans les deux types de chromatographies ;
- un activateur A_3 donnant avec le réactif méthanol-acide sulfurique une fluorescence bleue sous la rampe à ultra-violets au Rf de GA_3 et de GA_1 en chromatographie sur papier et sur couche mince. Le volume d'élution (410-460 ml) est par contre plus proche de celui de GA_1 que de celui de GA_3 ;
- un activateur A_4, plus actif à l'égard du test "hypocotyle de laitue" qu'à l'égard du test "feuille d'avoine" et dont le Rf, le volume d'élution et la fluorescence





Dosages en microgrammes/Kg d'algues fraîches :

	A	B
A_1	3	3
A_2	10	12
A_3	12	12
A_4	4	6
A_5	5	5
A_6	3	5

	C	D
A_1	3	4
A_2	4	17
A_3	7	9
A_4	8	7

C P	M	M	Bl	JV	M	–
C C M	M	M	Bl	JV	M	–

C P	–	J	–	JV
C C M				

Figure 34 : Résultats des tests "feuille d'avoine" (A et C) et "hypocotyle de laitue" (B et D) et des tests biochimiques de fluorescence aux ultra-violets sur les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) d'extraits de Caulerpa prolifera. (Ordonnées : élongation des feuilles d'avoine et des hypocotyles de laitue au-delà de celles des témoins. Abscisses = Rf en chromatographie sur papier. Résultats des tests de fluorescence aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique en chromatographie sur papier (CP) et sur couche mince (CCM) : fluorescence Bl = bleu, J = jaune, M = mauve, V = vert, – = aucune fluorescence. Les dosages sont exprimés en équivalents de GA_3. Les tests biologiques ont été réalisés avec un extrait de 500 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec un extrait de 100 et 150 grammes).

aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique sont identiques à ceux de GA_7 (Cf. tableaux 5 et 6) ;

- un activateur A_5 dont la position sur les chromatogrammes (papier et couche mince) et la fluorescence mauve aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique sont voisins de celles de GA_9 et GA_4. Le volume d'élution dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 (460-490 ml) est du même ordre que celui de GA_4 (470-500 ml) et nettement différent de celui de GA_9 (250-280 ml) ;
- un activateur A_6 au front du solvant, ne donnant aucun produit fluorescent avec le réactif biochimique méthanol-acide sulfurique.

Il convient de mentionner également l'existence de trois inhibiteurs d'activités non négligeables aux Rf 0,1 (I_1), 0,60 (I_3) et 0,90 (I_4).

La fraction butanol secondaire (C et D fig. 34) révèle l'existence des substances suivantes :

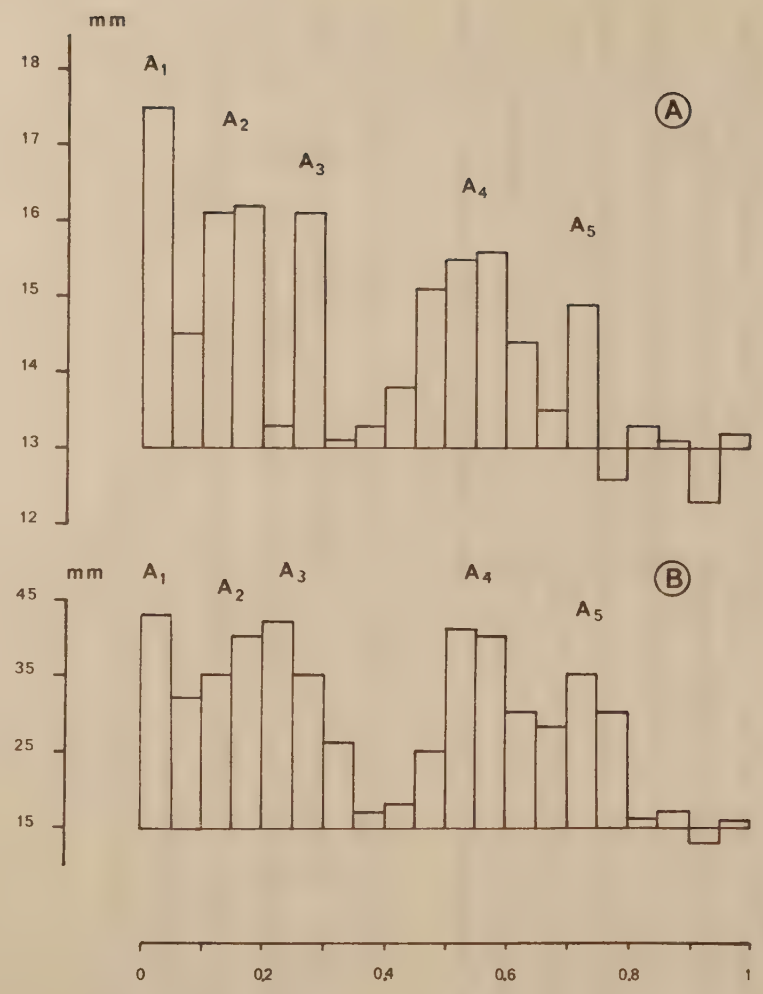
- les activateurs A_1 au Rf 0,1 et A_3 au Rf 0,45, ne donnant aucune fluorescence sous la rampe à ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique, de même qu'avec les réactifs eau-acide sulfurique et acide sulfurique concentré ;
- les activateurs A_2 au Rf 0,3 et A_4 au Rf 0,85 donnant une fluorescence jaune (A_2) et jaune verdâtre (A_4) aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique ;
- trois inhibiteurs (I_1, I_2 et I_3) de nature inconnue.

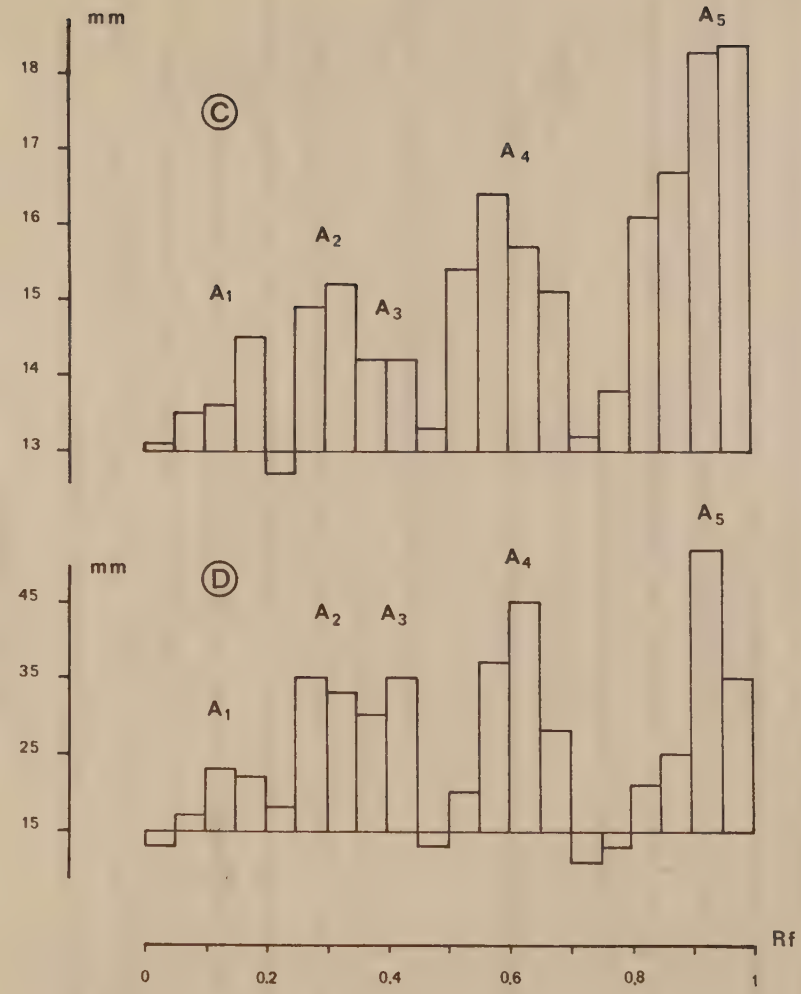
b) Codium fragile

Cette espèce a été récoltée le 16 novembre 1968 au large de la Pointe Rouge, dans la banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône), par dix mètres de fond, dans un biotope photophile de mode calme passablement pollué par des eaux d'égouts. Les individus avaient une longueur moyenne de 9 cm.

L'analyse chromatographique de la fraction acétate d'éthyle (A et B, fig. 35) a permis de mettre en évidence les substances suivantes :

- deux activateurs A_1 et A_2 dont les Rf (0 à 0,5 pour A_1 et 0,1 à 0,15 pour A_2) et la fluorescence bleue aux ultra-violets sous l'action du réactif méthanol-acide sulfurique ne correspondent pas à l'une des gibbérellines de référence (Cf. tableaux 5 et 6) ;
- un activateur A_4 dont les Rf dans les deux types de chromatographies (0,5 à 0,6 en chromatographie sur papier et 0,1 en chromatographie sur couche mince), le volume d'élution (380-440 ml) et la fluorescence (bleu-verdâtre vif) sous la rampe à ultra-violets avec les réactifs méthanol-acide sulfurique et éthanol-acide sulfurique sont semblables à ceux de GA_3 ;
- un activateur A_5 dont les Rf en chromatographie sur papier (0,7-0,75) et sur





Dosages en microgrammes/Kg d'algues fraîches :

	A	B
A_1	8.5	7.5
A_2	4.6	5.2
A_3	2.3	5.3
A_4	6.1	5.4
A_5	0.2	0.6

	C	D
A_1	0.15	0.10
A_2	0.45	1.1
A_3	0.2	0.6
A_4	7.7	7.5
A_5	2 3	1 8

C P	Bl	Bl Bl		Bl	Bl	
C C M	Bl	Bl Bl		Bl	Bl	

C P	—	J	Bl	Bl	—	
C C M	—	J	Bl	Bl	—	

Figure 35 : Résultats des tests "feuille d'avoine" (A et C) et "maïs nain" (B et D) et des tests de fluorescence aux ultraviolets avec le réactif méthanol-acide sulfurique sur les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) d'extraits de Codium fragile. (Même légende que pour la figure 34. Le test "feuille d'avoine" a été réalisé avec un extrait de 2 grammes de poudre lyophilisée, le test "maïs nain" avec un extrait de 500 mg et les tests biochimiques avec des extraits de 150 et 300 grammes).

couche mince (0,3) sont semblables à ceux de GA_7 mais dont la fluorescence bleue aux ultra-violets sous l'action du réactif méthanol-acide sulfurique de même que le volume d'élution sont différents (460-520 ml).

La fraction butanol secondaire a révélé l'existence des produits suivants (C et D, fig. 35) :

- les activateurs A_1 au Rf 0,1-0,2 et A_5 au Rf 0,9-1 ne donnant aucune fluorescence sous la rampe à ultra-violets avec les réactifs méthanol-acide sulfurique, éthanol-acide sulfurique, eau-acide sulfurique et acide sulfurique concentré ;
- les activateurs A_3 et A_4 aux Rf 0,4 et 0,6 donnant une fluorescence bleutée aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique ;
- l'activateur A_2 au Rf 0,3 donnant avec le réactif méthanol-acide sulfurique une fluorescence légèrement jaunâtre sous la rampe à ultra-violets.

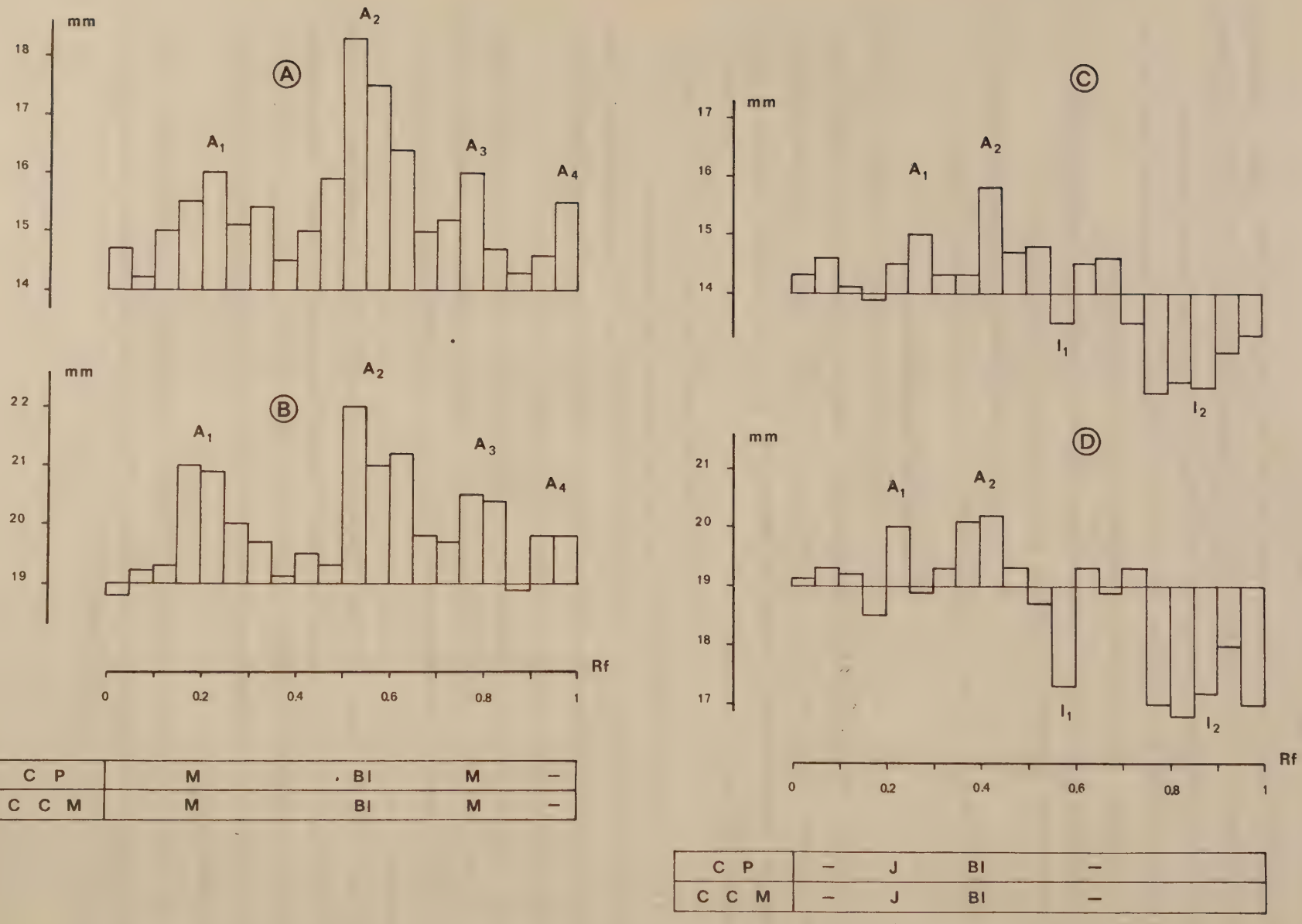
Il convient de souligner la concentration relativement élevée de A_5 : 18 à 25 microgrammes par kilogramme d'algue fraîche.

c) Enteromorpha prolifera

Cette espèce a été récoltée le 20 mars 1972 au Jaï, à proximité de Marignane (Bouches-du-Rhône), dans un biotope infralittoral photophile de mode calme, pollué par le débouché d'un petit égout et par des produits industriels rejetés dans l'étang de Berre. Les individus avaient une longueur momoyenne de 36 mm.

La fraction acétate d'éthyle (A et B, fig. 36, E fig. 37) ne contient pratiquement que des activateurs de croissance :

- A_1 dont le Rf (0,2) et la fluorescence mauve clair aux ultra-violets sous l'action du réactif méthanol-acide sulfurique n'autorisent pas le rapprochement avec l'une des gibbérellines de référence (Cf. tableaux 5 et 6) ;
- A_2 dont les Rf en chromatographie sur papier (0,5-0,6) et en couche mince (0,1), le volume d'élution (360-420 ml) et la fluorescence bleue aux ultra-violets sous l'action du réactif méthanol-acide sulfurique sont semblables à ceux de GA_3 (Cf. tableaux 5 et 6) ;
- A_3, aux Rf de GA_9 dans les deux types de chromatographies, donnant avec le réactif méthanol-acide sulfurique la même fluorescence sous la rampe à ultra-violets que cette gibbérelline (mauve grisâtre) et dont le volume d'élution (300-340 ml) est par contre légèrement plus élevé que celui de la gibbérelline GA_9 de référence (250-280 ml) ;
- A_5, au front du solvant, ne donnant aucune fluorescence aux ultra-violets avec les réactifs méthanol-acide sulfurique, éthanol-acide sulfurique, eau-acide sulfurique, acide sulfurique concentré.



Dosages en microgrammes/Kg d'algues fraîches :

	A	B
A_1	10	8
A_2	55	42
A_3	6	5
A_4	0.8	0.4

	C	D
A_1	0.6	0.5
A_2	3.5	2.8

C P	M	BI	M	–
C C M	M	BI	M	–

C P	–	J	BI	–
C C M	–	J	BI	–

Figure 36 : Résultats des tests "feuille d'avoine" (A et C) et "hypocotyle de laitue" (B et D) et des tests de fluorescence aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique sur les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) d'extraits d'Enteromorpha prolifera. (Même légende que pour la figure 34. Les tests biologiques ont été réalisés avec des extraits de 500 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 80 grammes de poudre).

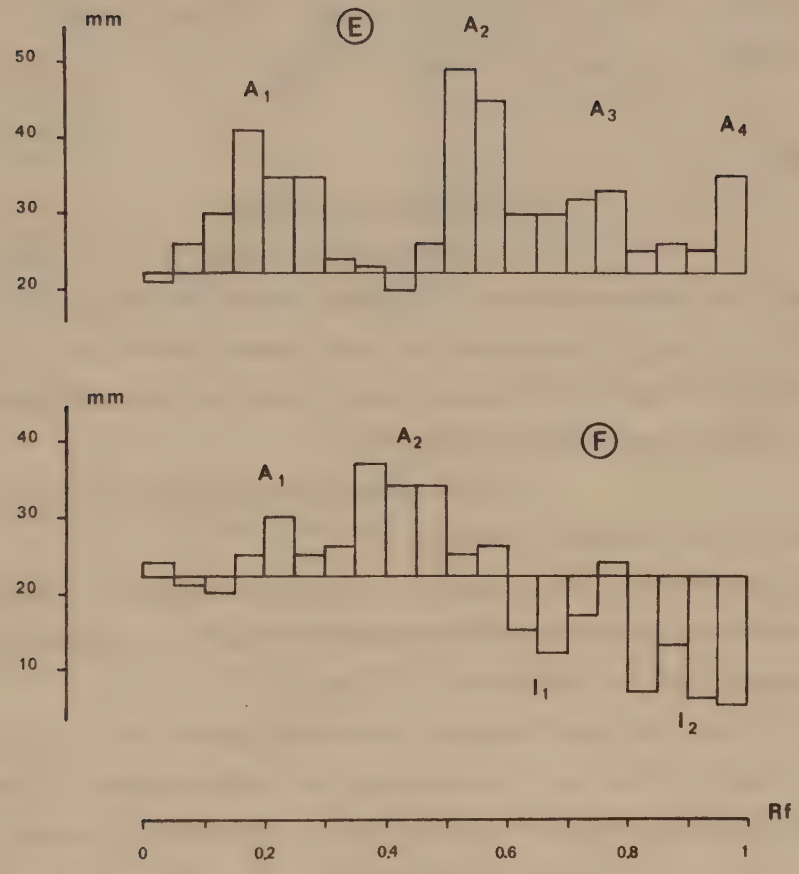


Figure 37 : Résultats du test "maïs nain" sur la fraction "acétate d'éthyle" (E) et "butanol secondaire" (F) de l'extrait d'Enteromorpha prolifera. (Même légende que pour la figure 34. Le test a été réalisé avec un extrait de 500 mg de poudre lyophilisée).

Il convient de souligner la concentration relativement élevée de A_2 : 8 à 10 microgrammes par kilogramme d'algue fraîche.

La fraction butanol secondaire (C et D fig. 36, F fig. 37) contient :

- deux activateurs de croissance (A_1 et A_2) respectivement localisés aux Rf 0,2-0,3 et 0,35-0,45 et donnant avec le réactif méthanol-acide sulfurique une fluorescence jaunâtre (A_1) et bleue (A_2) sous la rampe à ultra-violets ;
- deux inhibiteurs (I_1 et I_2) de nature inconnue.

2°) Phéophycées

a) Cystoseira stricta

Ces Cystoseires forment une ceinture de végétation caractéristique des rochers battus de l'étage infralittoral supérieur (Roger MOLINIER 1958). C'est à ce niveau, à la pointe du petit Gaou (AUGIER et al. 1971), dans la région du Brusc (Var) que cette espèce a été récoltée le 20 février 1971. Les individus avaient une longueur moyenne de 78 mm.

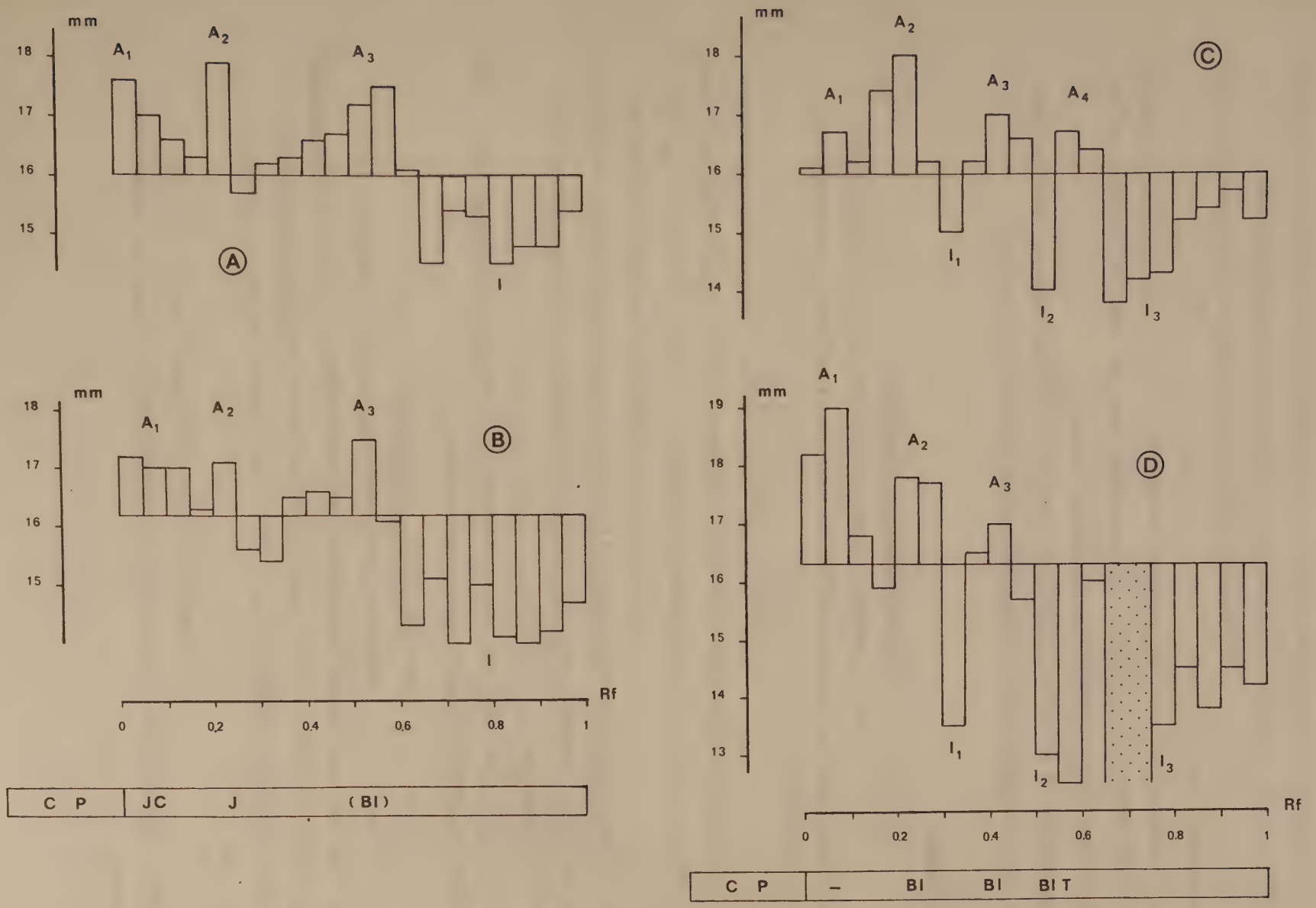
La fraction acétate d'éthyle (A et B, fig. 38) révèle l'existence des activateurs suivants :

- A_1 et A_2 que les Rf et la fluorescence jaunâtre aux ultra-violets sous l'action du réactif méthanol-acide sulfurique ne permettent pas de rapprocher de l'une ou l'autre des gibbérellines de référence (Cf. tableaux 5 et 6) ;
- A_3 dont les Rf dans les deux types de chromatographies et le volume d'élution sont semblables à ceux de GA_3. La fluorescence aux ultra-violets provoquée par le réactif méthanol-acide sulfurique est blanchâtre, légèrement bleutée.

La fraction butanol secondaire (C et D, fig. 38) contient les activateurs suivants :

- A_1 au front du solvant qui est surtout actif à l'égard du test "hypocotyle de laitue" et ne donnant aucune fluorescence sous la rampe à ultra-violets avec les réactifs méthanol-acide sulfurique, éthanol-acide sulfurique, eau-acide sulfurique et acide sulfurique concentré ;
- A_2 et A_3 respectivement aux Rf 0,25 et 0,4 en chromatographie sur papier donnant tous deux la même fluorescence bleue aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique.

Signalons enfin la présence, dans le cas de l'extrait à l'acétate d'éthyle, d'une zone d'inhibition largement étalée des Rf 0,6 à 1 et, pour l'extrait au butanol, de 3 inhibiteurs de croissance (I_1, I_2 et I_3), le troisième (I_3) inhibant entièrement la croissance des "hypocotyles de laitue".



Dosages en microgrammes/Kg d'algues fraîches :

	A	B
A_1	1.6	2
A_2	1.6	1.2
A_3	2.4	2.5

	C	D
A_1	0.2	1 2
A_2	2.4	2.4
A_3	0.5	0.6
A_4	0.3	0

Figure 38 : Résultats des tests "feuille d'avoine" (A et C) et "hypocotyle de laitue" (B et D) et des tests de fluorescence aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique sur les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) d'extraits de Cystoseira stricta. (Même légende que pour la figure 34. JC = fluorescence jaune clair, Bl T = fluorescence bleue terne. Les tests biologiques ont été réalisés avec des extraits de 500 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 200 grammes).

b) Petalonia fascia

Cette espèce a été récoltée le 9 mars 1968 au Cap d'Antibes (Alpes-Maritimes) dans un biotope précédemment décrit (Cf. page 123). Les thalles avaient une longueur moyenne de 15 cm. Cette algue n'a pas été analysée avec les techniques utilisées pour les autres espèces, il est néanmoins intéressant de rapporter ici les résultats obtenus avec la première méthode employée.

L'extrait méthanolique a révélé l'existence des substances suivantes (fig. 39) :

- trois activateurs A_1, A_2 et A_4 respectivement aux Rf 0,1, 0,25 et 0,75 et donnant la même fluorescence jaunâtre aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique appliqué sur les chromatogrammes papier ;
- un activateur A_3 au Rf de GA_3 (0,5-0,55) donnant une fluorescence bleutée très pâle aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique.

3°) Rhodophycées

a) Lithothamniun calcareum

Les expériences ont porté sur le lot de poudre aimablement fourni par la Société LEMAIRE et déjà utilisé pour la recherche des auxines (Cf. page 132).

La fraction acétate d'éthyle étant particulièrement pauvre en activateurs de croissance de nature gibbérellique ; elle renfermait essentiellement deux inhibiteurs relativement importants : I_1 et I_2 (A et B, fig. 40).

La fraction butanol secondaire contient encore deux inhibiteurs d'importance non négligeable (I_1 et I_2) mais également deux activateurs :

- l'un (A_1) au Rf 0,4 donnant une fluorescence jaune clair aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique ;
- l'autre (A_2) au Rf 0,85 donnant une fluorescence jaune-mauve sous la rampe à ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique.

b) Petroglossum nicaeense

Cette espèce a été récoltée le 11 février 1970 à Callelongue, dans la banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône) au sein du Petroglossoplocamietum (Roger MOLINIER 1958), biocénose classique des biotopes sciaphiles superficiels de mode battu (AUGIER et al. 1971). Les frondes avaient une longueur moyenne de 25 mm.

La fraction acétate d'éthyle (A et B, fig. 41) contient un nombre relativement important de substances activatrices ou inhibitrices de la croissance :

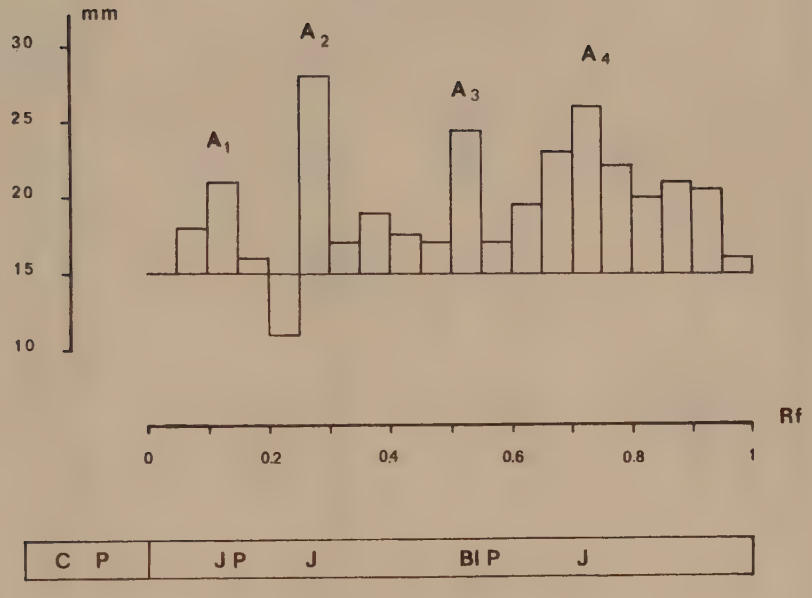
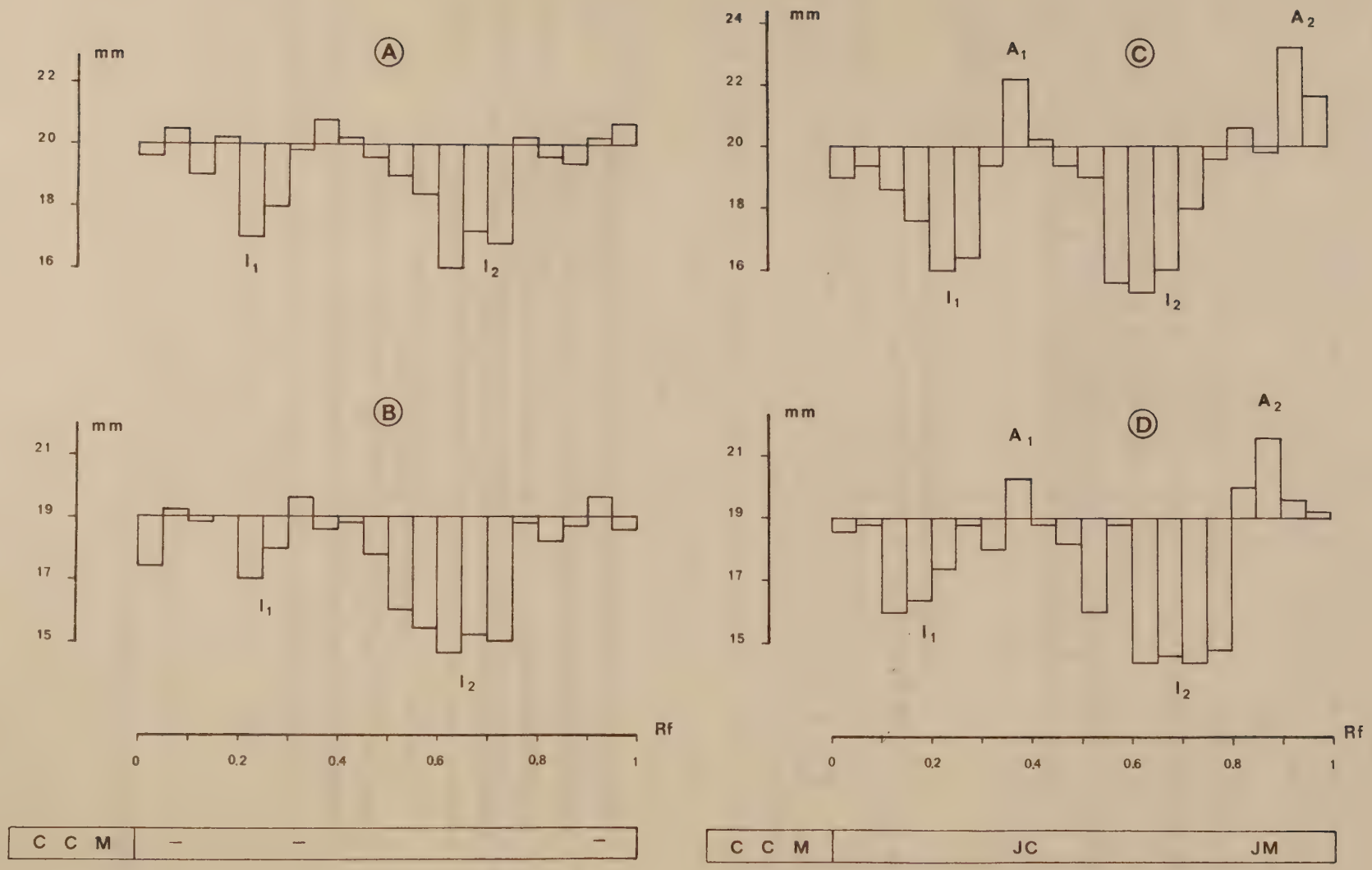


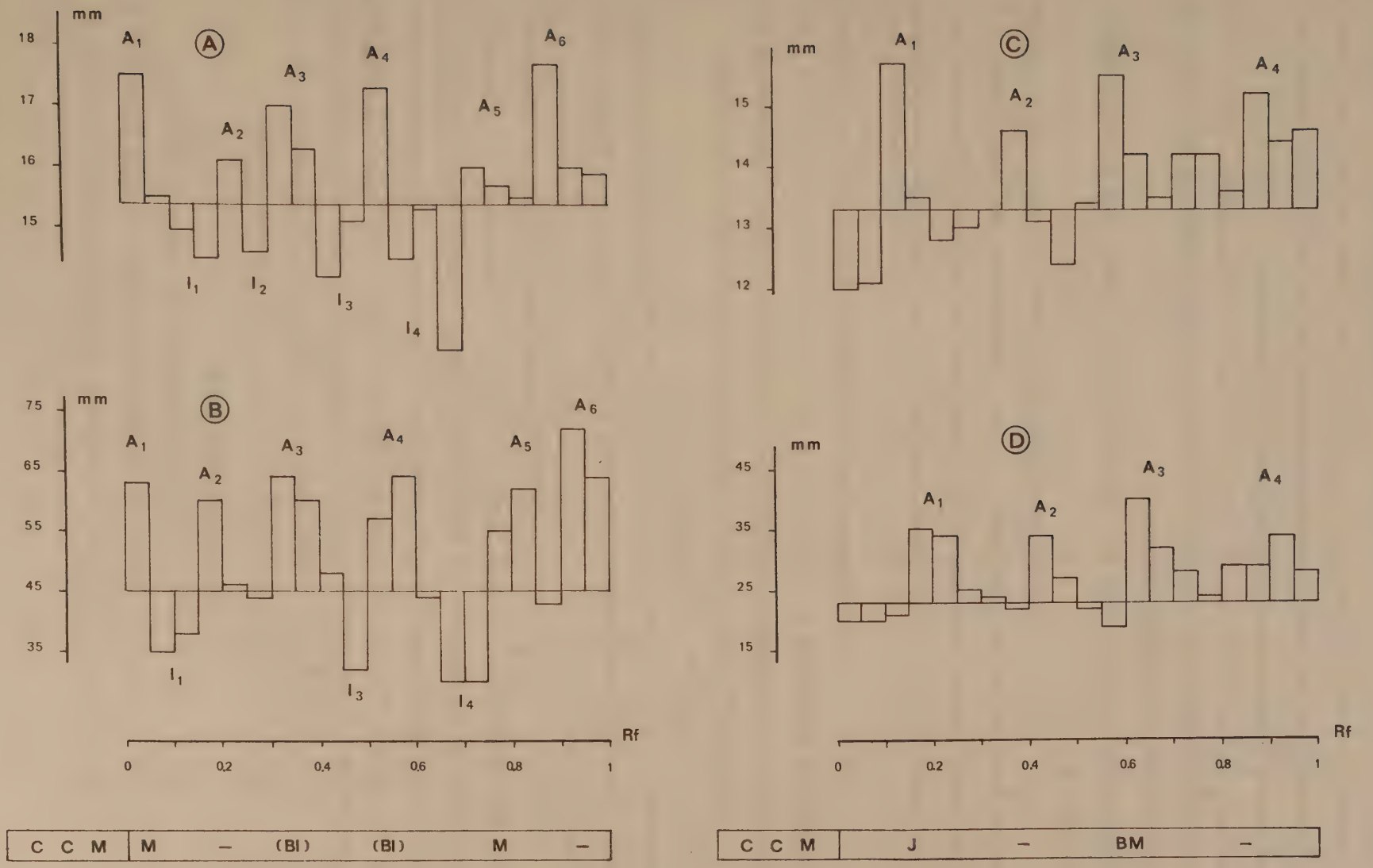
Figure 39 : Résultats du test "maïs nain" (histogramme) et des tests de fluorescence aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique appliqué sur chromatogramme papier (CP) des extraits de Petalonia fascia. (Même légende que pour la figure 34. P = pâle. Le test biologique a été réalisé avec un extrait de 300 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec un extrait de 50 grammes. Dosages en microgrammes/Kg d'algues fraîches : A_1 = 8, A_2 = 23, A_3 = 16, A_4 = 45).



Dosages en microgrammes/Kg d'algues fraîches :

	C	D
A_1	0.6	0.5
A_2	1	0.9

Figure 40 : Résultats des tests "feuille d'avoine" (A et C) et "hypocotyle de laitue" (B et D) et des tests de fluorescence aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique sur les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) des extraits de Lithothamnium calcareum. (Même légende que pour les figures 34 et 38. Les tests biologiques ont été réalisés avec 5 grammes de poudre, les tests de fluorescence avec 50 grammes).



Dosages en microgrammes/Kg d'algues fraîches :

	A	B
A_1	–	2
A_2	–	0.9
A_3	–	3.8
A_4	–	3.2
A_5	–	2.8
A_6	–	8

	C	D
A_1	–	2
A_2	–	1.5
A_3	–	3.2
A_4	–	2

Figure 41 : Résultats des tests "feuille d'avoine" (A et C) et "maïs nain" (B et D) et des tests de fluorescence aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique sur les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) de Petroglossum nicaeense. (Même légende que pour les figures 34 et 38. Les tests biologiques ont été réalisés avec des extraits de 1 gramme de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 40 grammes. Pour les fractions A et C les résultats des dosages n'ont pas été donnés, une erreur de concentration s'étant produite dans la préparation de la gamme de concentration de GA_3).

- les activateurs A_1 à proximité de la ligne de dépôt et A_5 (actif surtout sur le test "maïs nain") au Rf 0,8 donnant une fluorescence mauve très pâle sous la rampe à ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique qui ne permet pas de les identifier ;
- les activateurs A_2 au Rf 0,15 et A_6 au front du solvant avec lesquels les réactifs méthanol-acide sulfurique, éthanol-acide sulfurique et eau-acide sulfurique ne provoquent aucune fluorescence sous la rampe à ultra-violets ;
- les activateurs A_3 au Rf 0,35 et A_4 au Rf 0,55 dont les fluorescence blanc-bleuté aux ultra-violets après action du réactif méthanol-acide sulfurique sont trop pâles pour en permettre l'identification ;
- quatre inhibiteurs (I_1, I_2, I_3 et I_4) dont l'un (I_2) n'exerce pas d'action sur le test "maïs nain".

Le fait que les fluorescences aient été difficilement perceptibles au cours de cette expérience provient probablement de l'utilisation d'une quantité insuffisante de poudre lyophilisée pour la réalisation correcte des tests biochimiques. Il n'a pas été possible de mener à bien des expériences complémentaires.

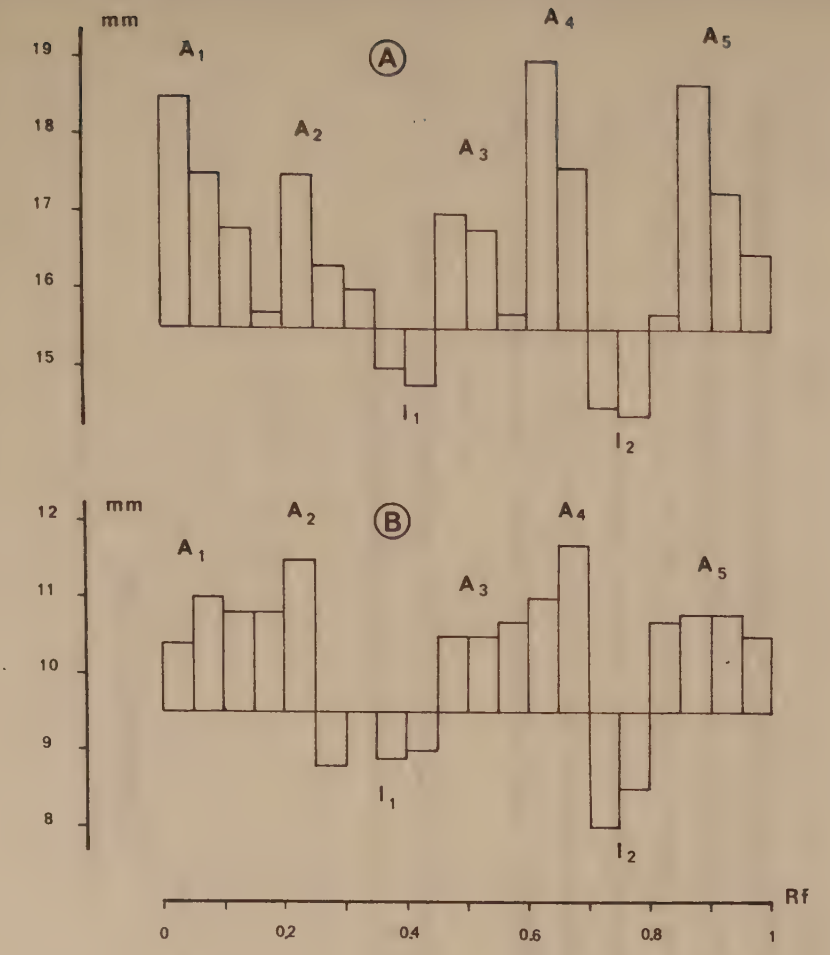
La fraction butanol secondaire (C et D, fig. 41) contient les substances suivantes :

- les activateurs A_2 au Rf 0,45 et A_4 au Rf 0,85 ne donnant aucune fluorescence sous la rampe à ultra-violets avec les réactifs méthanol-acide sulfurique, éthanol-acide sulfurique, eau-acide sulfurique ;
- les activateurs A_1 au Rf 0,2 et A_3 au Rf 0,65 donnant respectivement des fluorescences jaune pâle (A_1) et brun-mauve (A_3) aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique.

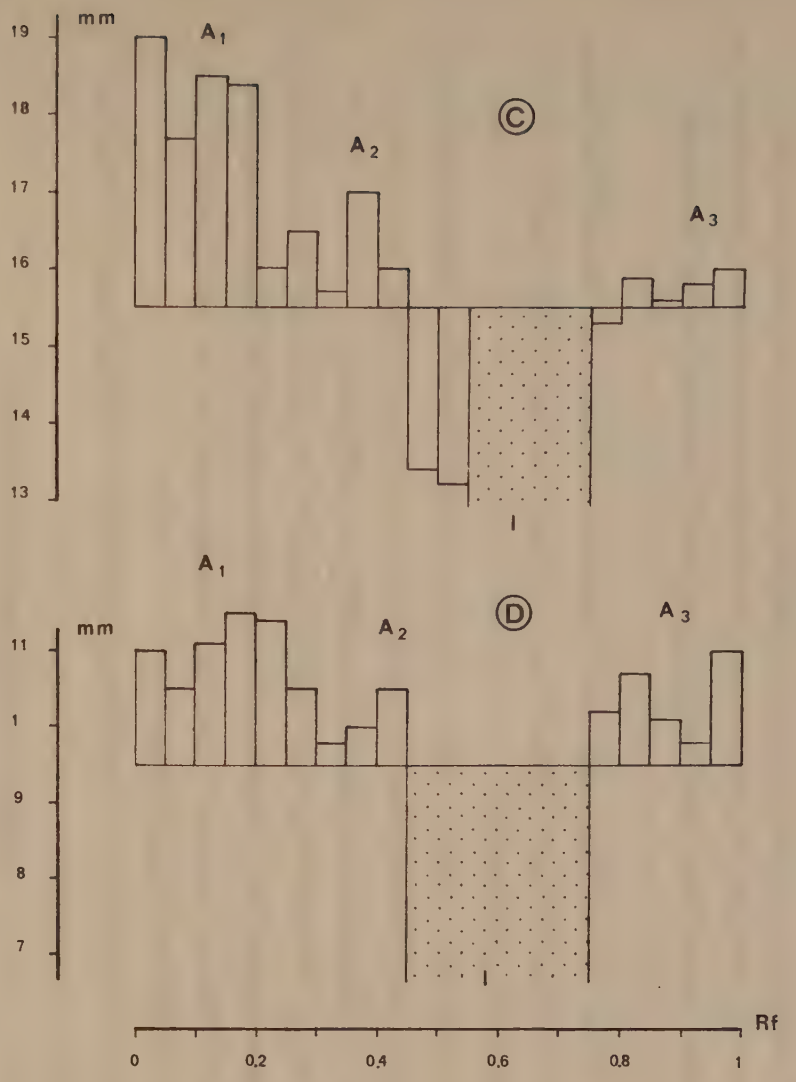
Il convient de mentionner pour terminer un résultat encore inexpliqué obtenu avec le test "hypocotyle de laitue". Lors de la réalisation de ce test, on néglige normalement la mesure des racines apparues après la germination pour ne mesurer que l'allongement de l'hypocotyle, la croissance des racines n'est généralement pas influencée par les gibbérellines. Or, avec l'extrait de Petroglossum nicaeense, les racines atteignent parfois une longueur 3 à 8 fois supérieure à celle des témoins. Ceci suggère l'existence dans les extraits, d'une substance particulière dont il serait intéressant de connaître la nature et les propriétés.

c) Porphyra leucosticta

Cette espèce a été récoltée le 3 avril 1968 à la Pointe Rouge, dans la banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône), où elle forme une ceinture saisonnière caractéristique sur les rochers du médiolittoral supérieur.



C P	R	—	—	M	MR
C C M	MO	Mcl	(BM)	M	MR



C P	J	—			—
C C M	J	—			—

Dosages en microgrammes/Kg d'algues fraîches :

	A	B
A_1	4	1.2
A_2	2	2.2
A_3	1.8	0.8
A_4	8	3.5
A_5	6	2.5

	C	D
A_1	20	12
A_2	1,2	0,5

Figure 42 : Résultats des tests "feuille d'avoine" (A et C) et "hypocotyle de laitue" (B et D) et des tests de fluorescence aux ultra-violets avec le réactif méthanol-acide sulfurique sur les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) des extraits de Porphyra leucosticta. (Même légende que pour les figures 34 et 38. cl = clair, R = rouge, O = orange. Les tests biologiques ont été réalisés avec des extraits de 500 mg de poudre lyophilisée, les tests biochimiques avec des extraits de 50 et 150 grammes).

Les thalles avaient une longueur moyenne de 35 mm.

La fraction acétate d'éthyle (A et B, fig. 42) révèle l'existence des substances suivantes :

- un activateur A_1 au voisinage de la ligne de dépôt donnant sous la rampe à ultra-violets une fluorescence rouge en chromatographie sur papier et mauve-orangé en chromatographie sur couche mince par l'action du réactif méthanol-acide sulfurique ; ces fluorescences ne sont pas caractéristiques d'une gibbérelline de référence (Cf. tableaux 6 et 7) ;
- un activateur A_2 au Rf 0,25 qui prend une fluorescence mauve très claire aux ultra-violets en chromatographie sur couche mince seulement et après application du réactif méthanol-acide sulfurique ;
- un activateur A_3 donnant sous la rampe à ultra-violets et avec le réactif méthanol-acide sulfurique une fluorescence bleu-mauve dont l'intensité est insuffisante pour autoriser un rapprochement certain avec GA_3 de référence ;
- un activateur A_4 au Rf 0,65-7 donnant sous la rampe à ultra-violets et après action du réactif méthanol-acide sulfurique une fluorescence mauve semblable à celle de GA_4 ; le volume d'élution dans la filtration moléculaire sur gel de SEPHADEX LH 20 est également semblable à celui de GA_4 ;
- un activateur A_5 au Rf 0,85-1, donnant avec le réactif méthanol-acide sulfurique une fluorescence mauve-rougeâtre aux ultra-violets ;
- deux inhibiteurs (I_1 et I_2) révélés par les tests biologiques.

La fraction butanol secondaire contient les substances suivantes (C et D, fig. 42) :

- un activateur A_1 particulièrement efficace à l'égard des deux tests biologiques et donnant avec le réactif méthanol-acide sulfurique une fluorescence jaune aux ultra-violets. Il convient de souligner la concentration particulièrement élevée de ce composé : 20 microgrammes par kilogramme d'algues fraîches ;
- deux autres activateurs respectivement aux Rf 0,4 (A_2) et 0,8-1 (A_3) sur lesquels le réactif méthanol-acide sulfurique ne provoque aucune fluorescence avec ou sans ultra-violets ;
- un inhibiteur qui s'étale du Rf 0,45 au Rf 0,75 et qui bloque complètement la croissance des feuilles d'avoine ainsi que celle des hypocotyles de laitue.

III. - CYTOKININES

1°) Mise en évidence

a) Enteromorpha linza

Cette Chlorophycée a été récoltée le 20 septembre 1971

dans l'étage infralittoral supérieur photophile de mode calme, à proximité de la Madrague, dans le secteur Est de la baie de Marseille (Bouches-du-Rhône), sur calcaire urgonien. Le peuplement était en plein développement, les frondes n'ayant qu'une longueur moyenne de 25 mm.

La figure 43 montre qu'il existe chez cette algue verte au moins une substance active sur le test moelle de tabac. Ce produit est contenu dans la troisième fraction d'élution de la chromatographie sur colonne de SEPHADEX LH 20. Il se localise dans une zone comprise entre les Rf 0,8 et 0,85 donnant une fluorescence bleue très vive sous l'action des rayons ultra-violets et une augmentation assez conséquente de la moelle de tabac qui se traduit surtout sur le poids de matière fraîche. Les fractions suivantes (non représentées sur le graphique) ne renferment aucune autre substance.

La fraction d'élution contenant la substance active est déposée sur une colonne de charbon actif, colonne qui est ensuite successivement éluée avec du méthanol, de la diéthylamine et du benzène (Cf. page 91). Les fractions méthanolique, diéthylamique et benzénique sont enfin analysées avec le test "moelle de tabac" (fig. 44) qui révèle que les activités de type cytokinine se localisent essentiellement dans le benzène et la diéthylamine. La comparaison des pics d'activité montre par ailleurs que c'est le benzène qui a le pouvoir d'élution le plus élevé.

b) Cystoseira discors

Cette phéophycée a été récoltée dans la lagune du Brusc (Var) au sein d'une prairie sous-marine clairsemée à Cymodocea nodosa installée sur matte morte de Posidonies (Posidonia oceanica) par 20 à 60 cm de profondeur. Les thalles branchus, d'une longueur moyenne de 90 mm, étaient encore en pleine croissance.

Le test "moelle de tabac" (figure 45) met en évidence chez cette algue brune la présence de plusieurs substances de type cytokinine dans les fractions d'élution : 1, 2, 3, 4, 6 et 7. L'examen des chromatogrammes en couche mince sous la lampe à ultra-violets a donné les résultats suivants :

- Fraction 1 (990 ml) :
  - . Rf 0,90 à 1 : aucune fluorescence nette
- Fraction 2 (330 ml) :
  - . Rf 0 à 0,70 : aucune fluorescence nette
- Fraction 3 (660 ml) :
  - . Rf 0 à 0,55 : flucrescence bleue
  - . Rf 0,55 à 0,75 : aucune fluorescence nette

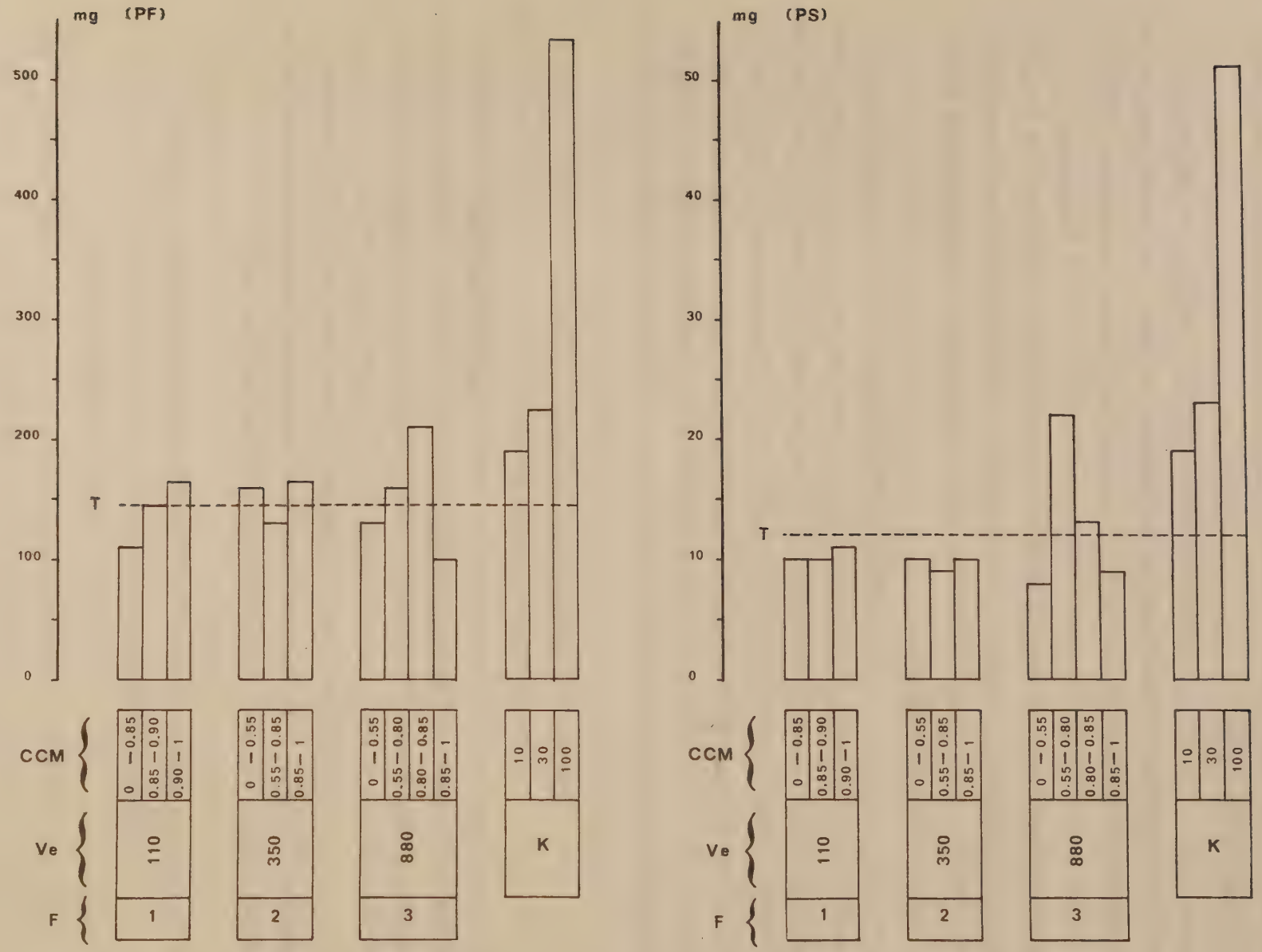


Figure 43 : Résultats fournis par le test "moelle de tabac" avec un extrait d'Enteromorpha linza. (L'activité correspond à 8,31 grammes de poudre lyophilisée. En ordonnées : augmentations de poids de matière fraîche (PF) ou de matière sèche (PS) exprimées en milligrammes (moyenne de 12 fragments de moelle). En abscisses : volume d'élution en millilitres (Ve) des fractions (F) dans la chromatographie sur colonne de SEPHADEX LH 20 (= quantité de méthanol nécessaire pour faire sortir de la colonne de SEPHADEX la totalité de la fraction F considérée) et largeur en centimètres des zones éluées des plaques en chromatographie sur couche mince (CCM). Les trois derniers pics correspondent à l'activité de la kinétine (K) appliquée aux concentrations de 10, 30 et 100 microgrammes/l. T = aug-

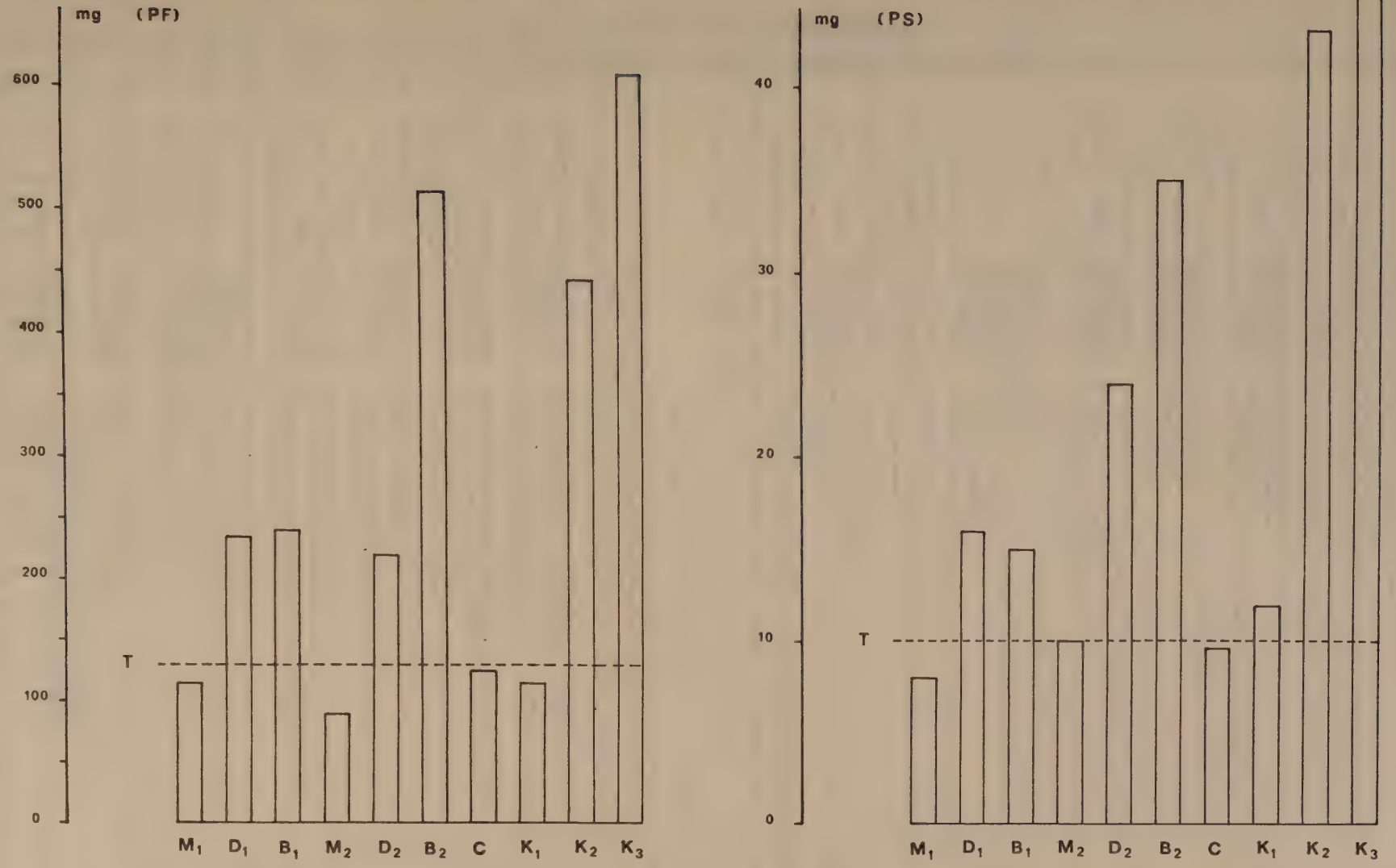


Figure 44 : Résultats fournis par le test "moelle de tabac" avec la fraction la plus active de l'extrait d'Enteromorpha linza. (Ve 880). (En ordonnées : augmentations de poids de matière fraîche (PF) ou de matière sèche (PS) exprimées en milligrammes (moyenne de 12 fragments de moelle). En abscisses : les différents éluants de la colonne de charbon, M = méthanol, D = diéthylamine, B = benzène, C = charbon (M_1, D_1 et B_1 correspondent à 8,31 g de poudre lyophilisée ; M_2, D_2, B_2 et C à 37,41 g). Les trois derniers pics représentent l'activité de la kinétine (K) appliquée aux concentrations de 10 (K_1), 30 (K_2) et 100 microgrammes/l (K_3). T = augmentation de poids des témoins).

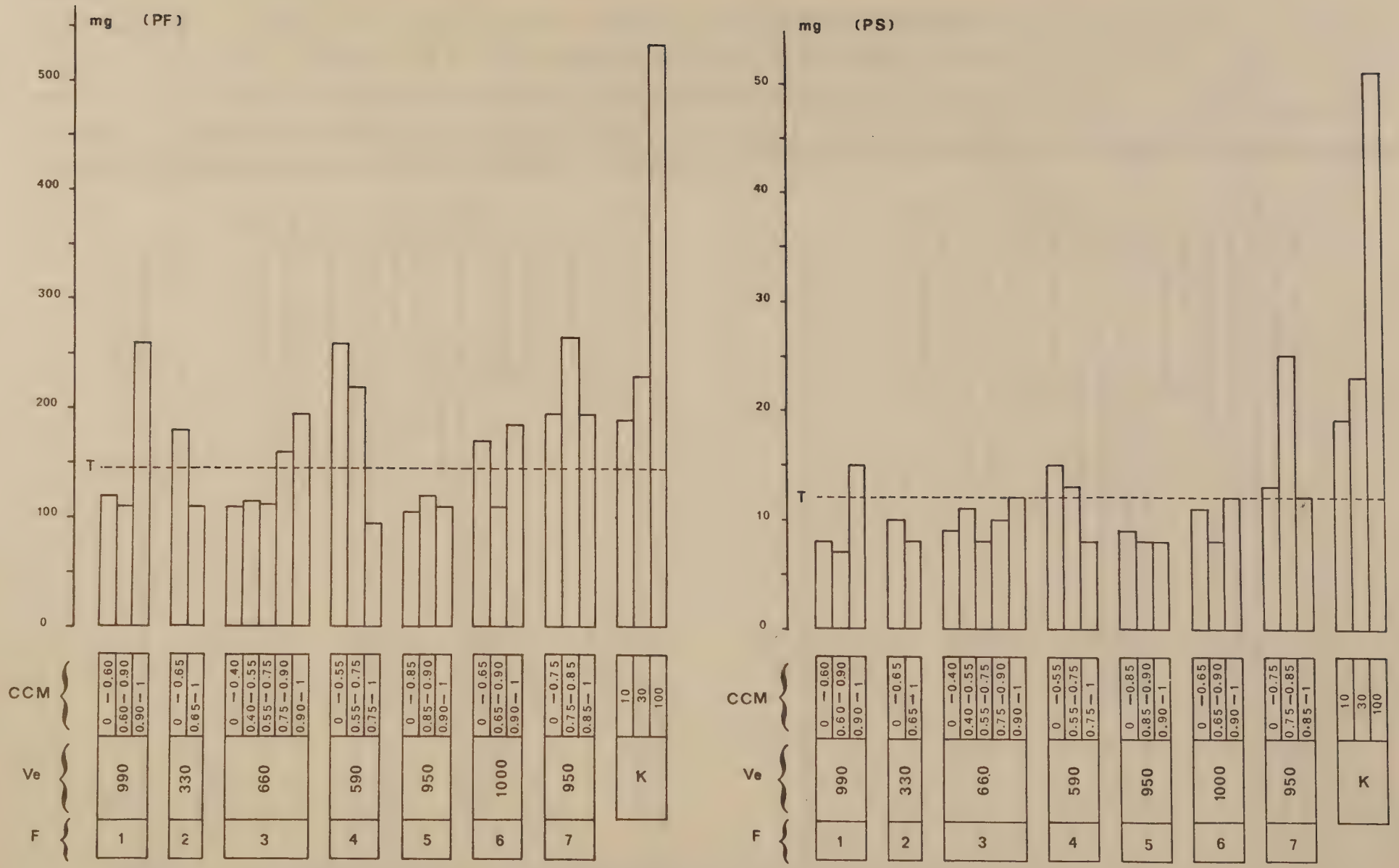


Figure 45 : Résultats fournis par le test "moelle de tabac" avec l'extrait de Cystoseira discors. (L'activité correspond à 9,78 grammes de poudre lyophilisée. Même légende que pour la figure 43).

- Fraction 4 (590 ml) :
  - . Rf 0 à 0,55 : aucune fluorescence nette
  - . Rf 0,55 à 0,75 : fluorescence mauve
- Fraction 6 (1000 ml) :
  - . Rf 0 à 0,65 : fluorescence bleue sur la ligne de dépôt
  - . Rf 0,90 à 1 : aucune fluorescence nette
- Fraction 7 (950 ml) :
  - . Rf 0 à 0,75 : aucune fluorescence nette
  - . Rf 0,75 à 0,85 : légère fluorescence mauve (très active sur le test "moelle de tabac")
  - . Rf 0,85 à 1 : aucune fluorescence nette

Les tests biologiques étaient négatifs avec les fractions supérieures à la fraction 7 et les résultats obtenus n'ont donc pas été représentés dans la figure 45.

L'activité la plus importante est donnée par la septième fraction (950 ml) qui provoque une augmentation importante des poids de matière fraîche et de matière sèche. La comparaison avec la gamme témoin révèle que cette activité est supérieure à l'équivalent de 30 γ/l de kinétine.

La figure 46 exprime les résultats fournis par le test "moelle de tabac" sur la fraction 7 sélectionnée pour son activité importante. L'élution de cette fraction déposée sur une colonne de charbon actif permet de confirmer les résultats obtenus au cours de la première expérience (figure 45). Les activités se localisent, par ordre d'importance, dans les éluants suivants : méthanol < diéthylamine < benzène. Comme pour l'extrait d'Enteromorpha linza, le benzène est donc l'éluant le plus efficace. Il convient de remarquer cependant qu'une faible activité révélée par le test "moelle de tabac" persiste dans le charbon élué (fig. 46).

En ce qui concerne la présence de produits actifs dans la fraction diéthylamine, le pic obtenu avec un extrait de 9,78 g de poudre lyophilisée est plus important que celui fourni par un extrait de 44 g. Ce résultat peut s'expliquer par l'existence d'inhibiteur(s) ou par le fait que la concentration des substances actives serait trop élevée dans l'extrait de 44 g et son action deviendrait inhibitrice sur la croissance de la moelle en dépassant le seuil d'efficience. A un degré moindre ce phénomène doit également exister pour la fraction benzénique.

c) Gymnogongrus norvegicus

Cette espèce a été prélevée le 27 septembre 1971 à proximité du Cap Croisette dans la banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône) dans son biotope caractéristique sciaphile superficiel de mode battu, sous une corniche

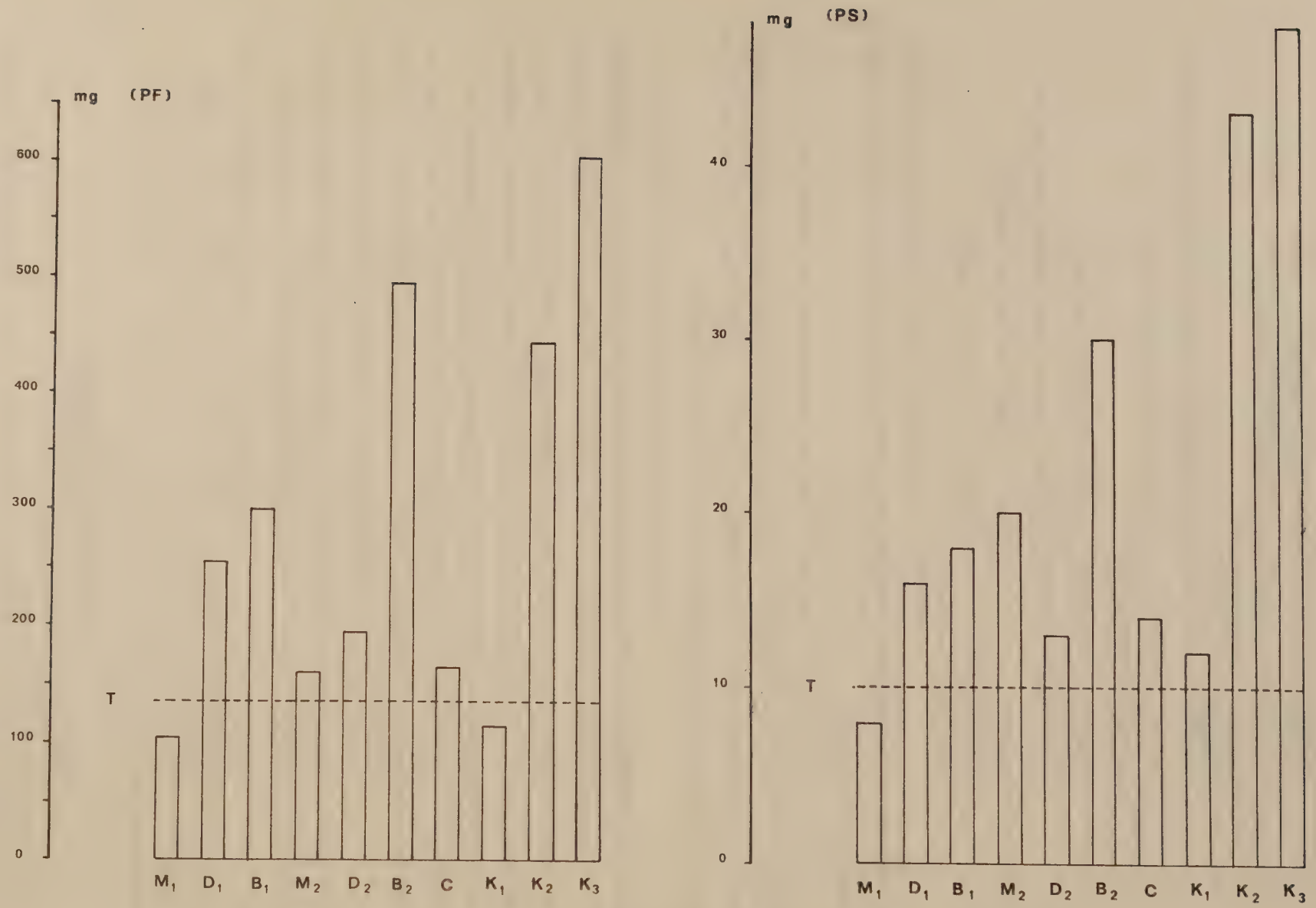


Figure 46 : Résultats fournis par le test "moelle de tabac" avec la fraction la plus active de l'extrait de Cystoseira discors. (Ve 950). (Même légende que pour la figure 44. M_1, D_1 et B_1 correspondent à 9,78 g de poudre lyophilisée ; M_2, D_2, B_2 et C à 44 g).

Figure 47 : Résultats fournis par le test "moelle de tabac" avec l'extrait de Gymnogongrus norvegicus. (L'activité correspond à 7,91 grammes de poudre lyophilisée. Même légende que pour la figure 43).

saillante à Lithophyllum tortuosum. Cette Rhodophycée était en mélange avec diverses composantes du Petroglosso-placamietum : Petroglossum nicaeense, Plocamium vulgare, Valonia utricularis, Cladophora pellucida, etc... Les thalles d'une longueur moyenne de 40 mm étaient encore en pleine croissance.

La figure 47 montre qu'il existe chez cette algue rouge un nombre moins important de substances actives à l'égard du test "moelle de tabac" que chez Cystoseira discors. L'activité se localise essentiellement dans la troisième fraction d'élution (150 ml) et se répartit en deux zones différentes sur le chromatogramme en couche mince :

- une zone localisée entre les Rf 0 et 0,35 qui ne donne aucune fluorescence nette sous la rampe à ultra-violets ;
- une zone comprise entre les Rf 0,35 et 0,55 qui montre une fluorescence jaune aux rayons ultra-violets.

La figure 48 regroupe les résultats obtenus avec le test "moelle de tabac" sur la fraction active de l'extrait (troisième fraction). Les activités se répartissent dans tous les solvants ayant servi à éluer la colonne de charbon, du moins pour l'extrait correspondant à 7,91 g de poudre lyophilisée (M_1, D_1 et B_1). Les fractions M_2, D_2 et B_2 donnent des résultats inattendus : réalisées à partir d'une plus grande quantité de poudre lyophilisée (35,61 g), elles devraient présenter des activités plus importantes que celles des fractions M_1, D_1 et B_1, or on note une diminution d'activité pour la fraction M_2 et même une action franchement inhibitrice sur la croissance de la moelle de tabac pour les fractions D_2 et B_2. Ce phénomène, déjà observé chez Cystoseira discors peut s'expliquer par la présence d'inhibiteur(s) ou par le fait que la concentration des fractions actives serait trop élevée dans les fractions M_2, D_2 et B_2 ce qui provoquerait une inhibition de la croissance de la moelle par dépassement du seuil d'efficience.

2°) Essais d'identification des cytokinines détectées

La chromatographie sur plaque de cellulose à l'aide de différents systèmes de solvants a donné les résultats suivants (tableau 10) :

- le développement des chromatogrammes à l'eau distillée laisse les substances fluorescentes contenues dans les extraits des trois algues sur la ligne de dépôt ; la zéatine ajoutée à l'extrait migre au Rf 0,5 ;
- avec le butanol secondaire à 75 %, les extraits de Cystoseira discors et de Gymnogongrus norvegicus donnent deux taches fluorescentes : une sur la ligne de dépôt, l'autre au Rf 0,1. L'extrait d'Enteromorpha linza donne une seule tache fluorescente sur la ligne de dépôt. La zéatine se localise au Rf 0,86 ;

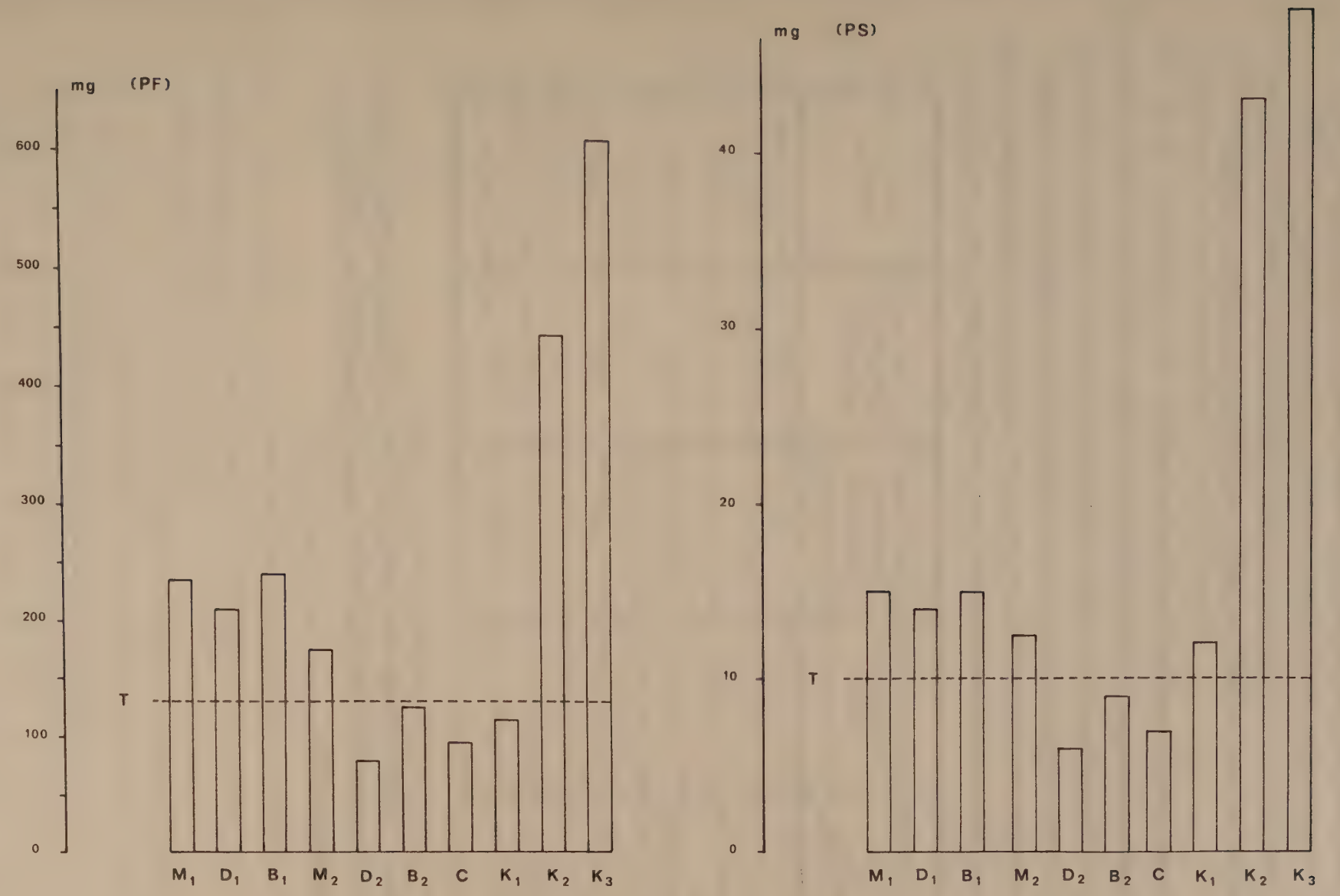


Figure 48 : Résultats fournis par le test "moelle de tabac" avec la fraction la plus active de l'extrait de Gymnogongrus norvegicus (Ve 150). Même légende que pour la figure 44. M_1, D_1 et B_1 correspondent à 7,91 g de poudre lyophilisée ; M_2, D_2, B_2 et C à 35,61 g).

- avec l'acide borique, les substances fluorescentes contenues dans les trois extraits d'algue restent sur la ligne de dépôt ; la zéatine migre au Rf 0,56 ;
- avec l'isopropanol à 80 %, les substances fluorescentes contenues dans les trois extraits restent sur la ligne de dépôt (la zéatine n'a pas été chromatographiée).

Si l'on compare les Rf obtenus pour ces substances inconnues avec ceux de certaines cytokinines connues, on s'aperçoit que les Rf des produits isolés des algues ne correspondent pas à ceux de la zéatine, de la 6-benzyl-adénine et de la kinétine (Cf. tableaux 10 et 11). Toutefois le réactif au bleu de bromophénol révèle la présence d'un noyau purique ou pyrimidique dans chacune des substances isolées et le test "feuille d'avoine" appliqué aux 5 zones fluorescentes séparées par le solvant butanolique confirme leur parenté avec les cytokinines.

extraits / solvants	Enteromorpha linza	Cystoseira discors	Gymnogongrus norvegicus	zéatine
H_2O	0	0	0	0,5
Butanol secondaire 75%	0 et 1	0 et 1	0	0,86
H_3BO_3 0,03 M	0	0	0	0,56
Isopropanol 80%	0	0	0	-

Tableau 11 : Récapitulation des Rf de différentes cytokinines isolées des algues et chromatographiées sur couche mince de cellulose dans différents systèmes de solvants.

CHAPITRE 2 : LES SUBSTANCES STIMULANTES ET INHIBITRICES DETECTEES DANS L'EAU DE MER

Une première série d'expériences fut réalisée en suivant, dans le temps, le comportement de l'AIA et de GA_3 dissous artificiellement dans l'eau de mer à raison de 1 mg d'hormone pour 10 litres d'eau. L'extraction à l'acétate d'éthyle était faite sur 1 litre de ce mélange contenant donc à l'origine 100 microgrammes d'hormones. Le but essentiel de ces expériences n'était pas de suivre dans le détail les modalités de la transformation des hormones artificiellement dissoutes dans l'eau de mer mais de savoir si elles s'y dégradent et à quel moment il n'est plus possible de déceler leur présence à l'aide des tests biochimiques.

Le réactif de Gordon Weber indique que l'AIA disparaît assez rapidement, même à l'obscurité : on obtient une teinte rose assez vive lorsque l'extrait est réalisé moins d'une heure après avoir placé l'AIA dans l'eau de mer, beaucoup moins vive lorsque l'extrait est effectué 12 heures après, insignifiante après 4 jours ; on ne décèle plus d'AIA au bout de 8 jours.

GA_3, par contre, se dégrade moins rapidement. Le test de fluorescence sous la rampe à ultra-violets après application du réactif méthanol-acide sulfurique à l'extrait d'eau de mer acidifiée (pH3) met encore en évidence l'acide gibbérellique 15 jours plus tard (fluorescence bleu-vert très vive sur le chromatogramme en couche mince). Il faut attendre plus d'un mois pour que cette fluorescence disparaisse.

Ces expériences démontrent donc que l'AIA et GA_3 dissous artificiellement dans l'eau de mer y sont progressivement dégradés : rapidement pour l'auxine, plus lentement pour GA_3.

A la suite de ces résultats on pourrait se demander si, à l'état naturel, l'eau de mer contient des substances de nature hormonale et nous avons donc entrepris de rechercher la présence d'activateurs ou d'inhibiteurs de croissance dans celle-ci.

La figure 49 exprime les résultats obtenus avec le test "mésocotyle d'avoine" appliqué à un extrait de 20 litres d'eau de mer prélevés au niveau du Cystoseiretum strictae au Brusc (Var) le 15 janvier 1970. L'histogramme A correspondant à un extrait d'eau de mer à pH 8,5 révèle l'existence d'une zone de très forte inhibition entre les Rf 0,45 et 1 ainsi que la présence de trois activateurs de croissance respectivement aux Rf 0,05 (A_1), 0,15-0,20 (A_2)

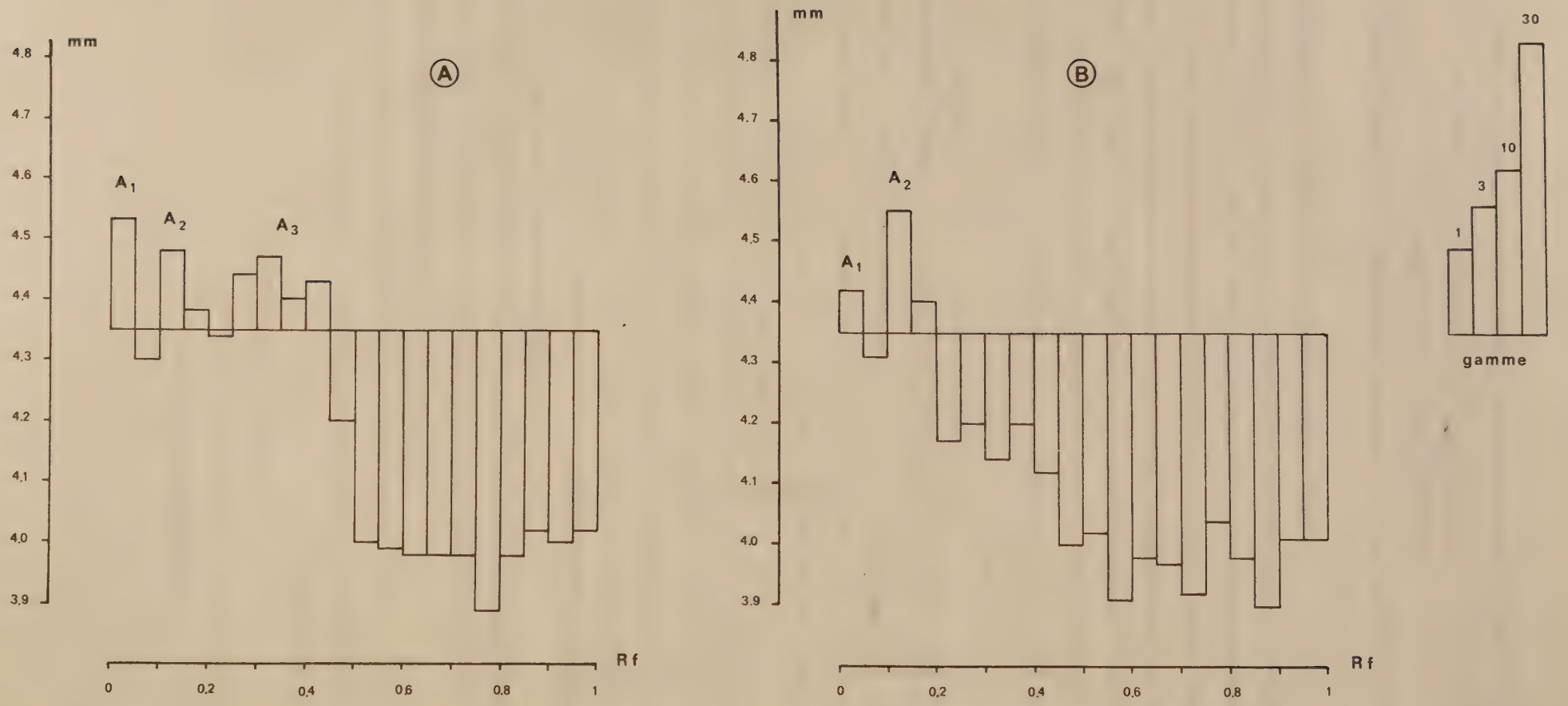


Figure 49 : Résultats fournis par les tests "mésocotyle d'avoine" avec un extrait de 20 litres d'eau de mer à pH 8,5 (A) et à pH 3 (B). (Même légende que pour la figure 14. L'eau de mer a été prélevée au niveau du Cystoseiretum strictae. A droite, gamme de référence en équivalent d'AIA : 1, 3, 10 et 30 microgrammes par litre).

et 0,30-0,45 (A_3). L'histogramme B, correspondant à l'extrait d'eau de mer acidifiée à pH 3, indique la présence de deux activateurs (A_1 et A_2) aux mêmes Rf que précédemment (0,05 et 0,15-0,20) et l'existence d'une zone d'inhibition particulièrement étendue (Rf 0,20-1). Les tentatives d'identification des substances actives sur le test "mésocotyle" à l'aide des tests biochimiques sont difficilement réalisables avec l'appareillage disponible ; les concentrations trop basses (0,05 microgramme/litre) nécessiteraient en effet le traitement d'au moins 500 litres d'eau de mer à l'aide de 3000 litres d'acétate d'éthyle pour chacun des tests. Nous avons donc renoncé pour le moment à avoir une indication quelconque sur la nature chimique de ces produits.

Les figures 50, 51 et 52 donnent les résultats fournis par les tests "feuille d'avoine" et "hypocotyle de laitue" réalisés avec un extrait de 100 litres d'eau de mer prélevée au niveau du Cystoseiretum strictae, au Brusc (Var), le 10 octobre 1971.

La fraction "acétate d'éthyle" non acidifiée de l'extrait à pH naturel (8,5) contient (figure 50) trois activateurs de croissance respectivement localisés aux Rf 0-0,30 (A_1), 0,70-0,75 (A_2) et 0,90-1 (A_3) et trois inhibiteurs : I_1 (Rf 0,35-0,50), I_2 (Rf 0,60-0,65) et I_3 (Rf 0,80-0,85).

La fraction "acétate d'éthyle" de l'extrait acidifié (fig. 51 A et B) contient quatre inhibiteurs (I_1, I_2, I_3 et I_4) dont l'action à l'égard des deux tests utilisés est importante, en particulier I_4, au Rf 0,6-1, qui inhibe complètement la croissance de l'hypocotyle de laitue. Cette fraction contient également un activateur (A_1) dont l'action sur les tests biologiques est minime. La fraction "butanol secondaire" du même extrait acidifié (fig. 51 C et D) révèle l'existence de six activateurs : A_1 (Rf 0,10), A_2 (Rf 0,30), A_3 (Rf 0,40), A_4 (Rf 0,50), A_5 (Rf 0,70) et A_6 (Rf 0,90). Il convient de souligner que le composé localisé au Rf 0,70 intervient comme activateur (A_5) sur le test "feuille d'avoine" et comme inhibiteur (I_2) sur le test "hypocotyle de laitue".

La fraction "acétate d'éthyle" de l'extrait de 100 litres d'eau de mer acidifiée (pH3) contient quatre activateurs de croissance (fig. 52 A et B) respectivement localisés aux Rf 0,05 (A_1), 0,25 (A_2), 0,45 (A_3) et 0,60 (A_4) ainsi qu'un inhibiteur (I) à proximité du front du solvant. La fraction "butanol secondaire" du même extrait d'eau de mer acidifiée contient trois activateurs aux Rf 0,05 (A_1), 0,15 (A_2) et 0,55 (A_3) et quatre inhibiteurs (I_1, I_2, I_3 et I_4) dont l'un (I_4) est particulièrement actif sur le test "hypocotyle de laitue".

Ces tests biologiques normalement spécifiques des substances de type gibbérellique n'ont pu être complétés par la réalisation des

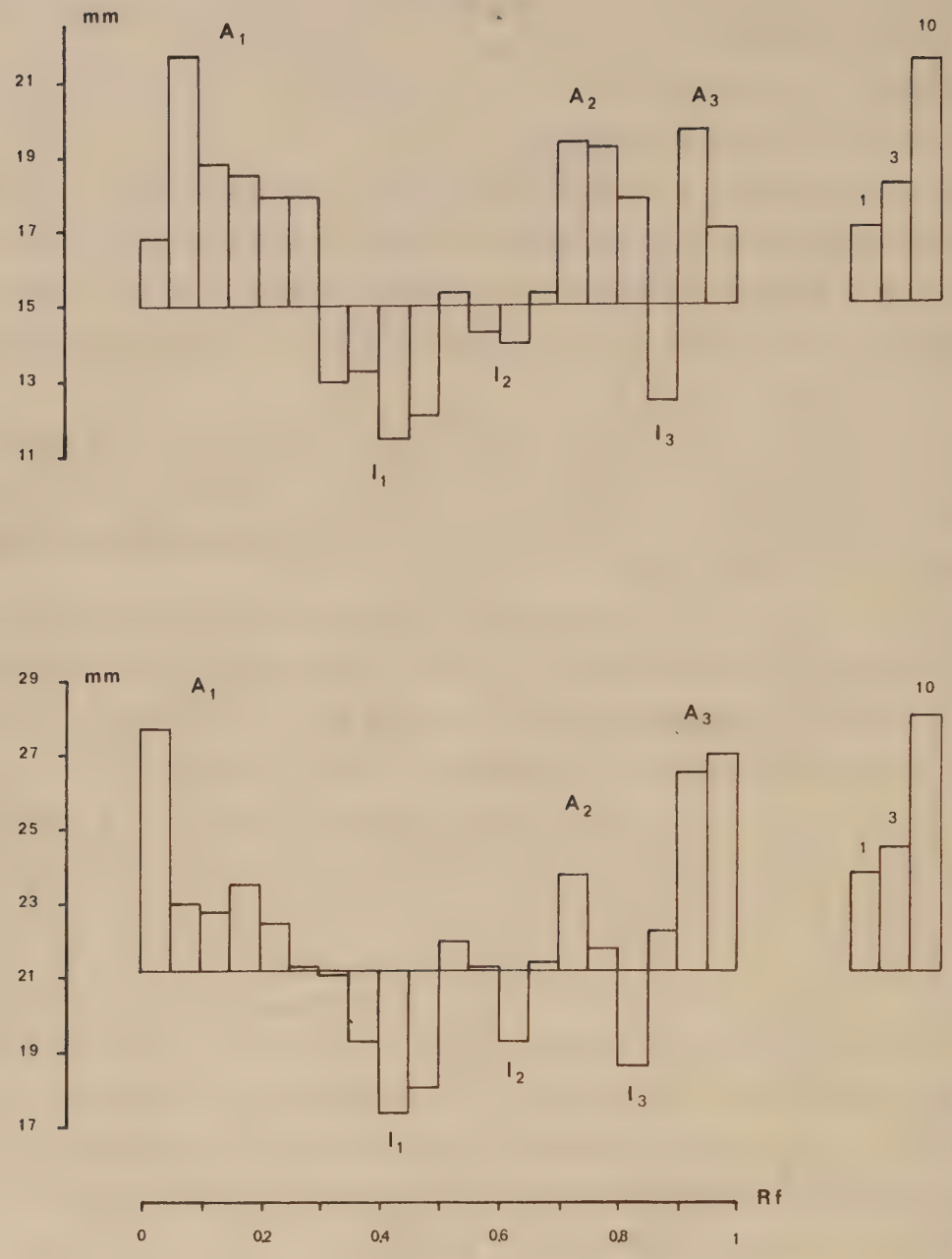


Figure 50 : Résultats fournis par les tests "feuille d'avoine" (A) et "hypocotyle de laitue" (B) avec la fraction "acétate d'éthyle" avant acidification de l'extrait de 100 litres d'eau de mer à pH naturel.
(Même légende que pour la figure 34. L'eau de mer a été prélevée au niveau du Cystoseiretum strictae. A droite, gamme de référence en équivalent de GA_3 : 1, 3, 10 microgrammes par litre).

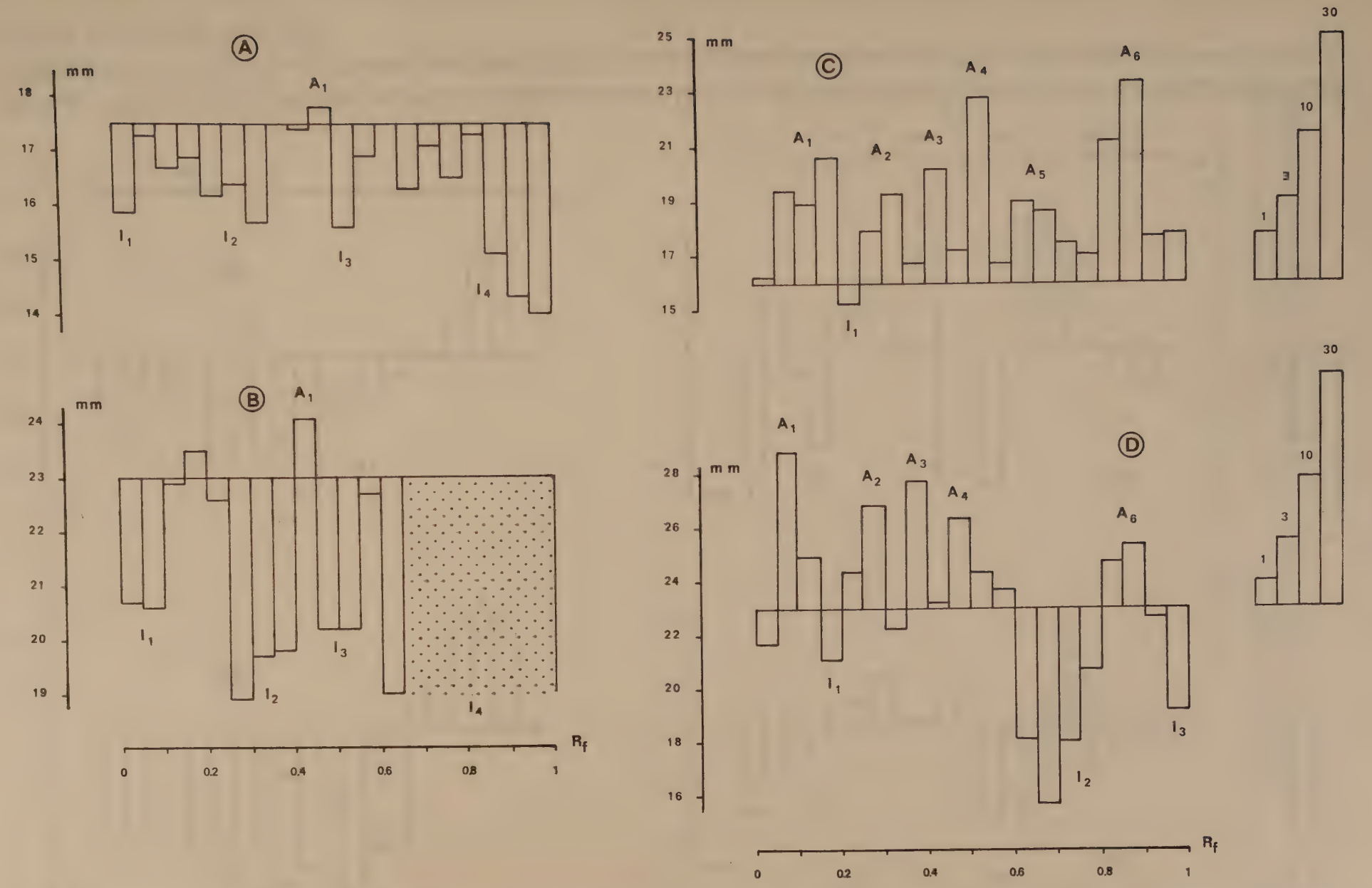


Figure 51 : Résultats fournis par les tests "feuille d'avoine" (A et C) et "hypocotyle de laitue" (B et D) avec les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) de l'extrait de 100 litres d'eau de mer à pH naturel. (Même légende que pour les figures 34 et 50).

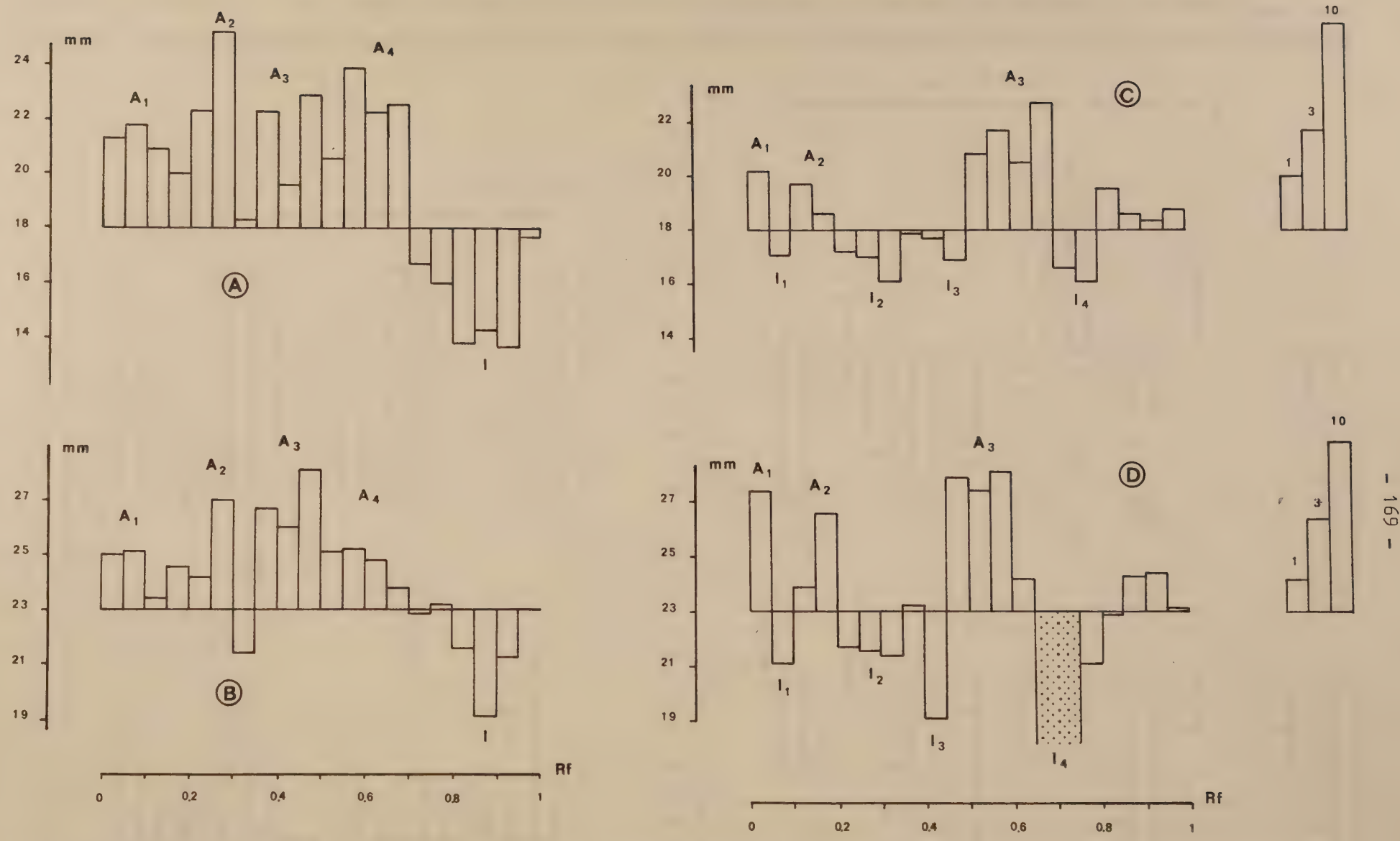


Figure 52 : Résultats fournis par les tests "feuille d'avoine" (A et C) et "hypocotyle de laitue" (B et D) avec les fractions "acétate d'éthyle" (A et B) et "butanol secondaire" (C et D) de l'extrait de 100 litres d'eau de mer à pH 3. (Même légende que pour les figures 34 et 50).

tests biochimiques d'identification car ceux-ci auraient nécessité, là encore, l'utilisation de quantité d'eau de mer et d'acétate d'éthyle dépassant largement la capacité de traitement de l'appareillage disponible.

CHAPITRE 3 : ACTION DES REGULATEURS DE CROISSANCE SUR LES ALGUES

I. - CROISSANCE

L'action des régulateurs de croissance sur la croissance des algues a été étudiée sur diverses espèces de Chlorophycées, de Phéophycées et de Rhodophycées.

1°) Chlorophycées

a) Bryopsis muscosa

Cette algue, caractéristique de la biocénose à Lithophyllum tortuosum et Neogoniolithon notarisii (AUGIER et al. 1971) a été étudiée en 1968 dans son biotope naturel du médiolittoral inférieur de mode battu, au Cap Croisette, dans la banlieue marseillaise (Bouches-du-Rhône). Formé de cladomes siphonés multinucléés, à croissance terminale, ce Bryopsis est caractérisé par des axes dressés peu ramifiés portant de nombreuses "pinnules" serrées. Ces cladomes forment des touffes sur les rochers ou sur les concrétions du Lithophyllum tortuosum.

Les résultats obtenus avec la méthode de "trempage au fond" (fig. 53) montrent que la K n'exerce pas d'action significative sur la croissance, GA_3 une action faiblement positive (maximum en janvier) et l'AIA une action légèrement plus marquée. La culture en laboratoire à l'aide du microphycotron (fig. 54) donne des résultats similaires avec les mêmes concentrations sauf avec la K qui inhibe légèrement la croissance.

Dans les cultures en laboratoire j'ai remarqué sur quelques individus la présence de proliférations à la partie inférieure du thalle dans les bacs contenant l'AIA et la K.

b) Caulerpa prolifera

Les expériences ont été réalisées au Cap d'Antibes (Alpes-Maritimes), à proximité d'ancienne madragues où les Caulerpes forment des prairies sous-marines sur fonds vaseux et sablo-vaseux entre 10 et 100 cm de profondeur. Cette algue à structure coenocytique multinucléée présente une morphologie et une spécialisation remarquables. Le thalle est en effet constitué par des axes rampants sur la vase qui ressemblent aux stolons des plantes supérieures ; ces "stolons" portent sur la face inférieure des groupes de petits filaments, ancrés dans la vase, appelés "rhizoïdes" et sur la face supérieure des lames dressées appelées

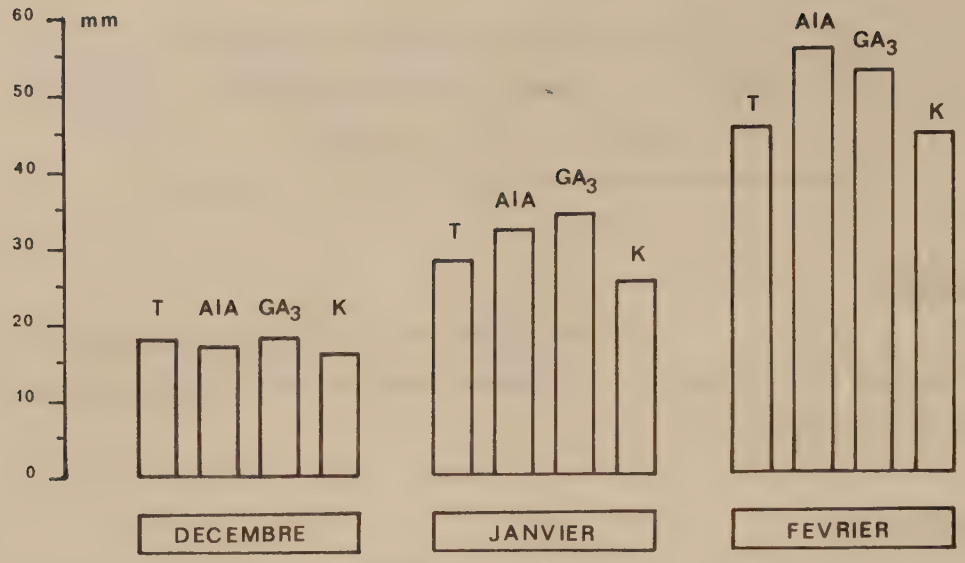


Figure 53 : Influence des substances de croissance sur la croissance in situ de Bryopsis muscosa. (T = témoin, AIA = acide indolyl-3-acétique, GA_3 = acide gibbérellique, K = kinétine. Ordonnées : moyenne de la longueur, en mm, de 10 touffes. Concentration des régulateurs de croissance : 10 microgrammes/l).

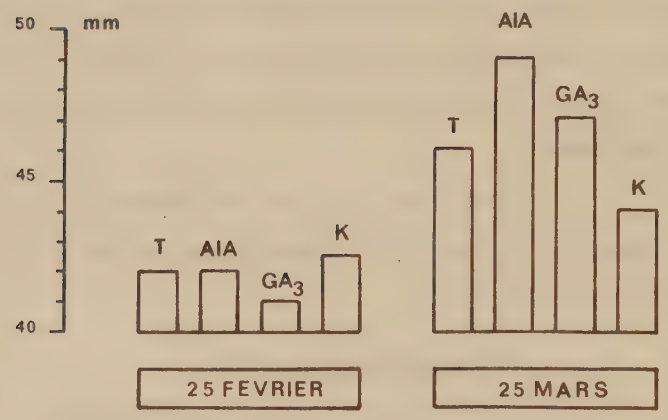


Figure 54 : Influence des substances de croissance sur la croissance in vitro de Bryopsis muscosa. (Même légende que pour la figure 53. Ordonnées : moyenne de la longueur, en mm, de 10 individus. Concentration des régulateurs de croissance : 5 microgrammes/500 ml. Conditions de culture : 17°C, 8 h de jour, courbe d'éclairement avec un maximum de 800 lux, oxygénation, 1 ml extrait de terre par bac de culture).

"feuilles", "frondes" ou "assimilateurs". Les "feuilles" comportent très souvent un "limbe" relié au "stolon" par un "pétiole". L'algue croît par l'une des extrémités du "stolon" où apparaissent, au fur et à mesure de son développement, de nouveaux "rhizoïdes" et de nouvelles "feuilles". Les Caulerpes sont à ranger parmi les rares espèces d'algues qui puisent leur nourriture non seulement dans l'eau mais également dans le "sol" qui doit obligatoirement être riche en matières organiques.

Les expériences in situ, par la méthode de "trempage au fond", n'ont pas été réalisées dans des peuplements denses mais dans des zones périphériques où les Caulerpes sont assez espacées les unes des autres pour en permettre l'étude. Ailleurs, en effet, la densité des "stolons" aurait empêché la mise en place des enceintes contenant l'eau de mer additionnée de régulateurs de croissance. Les "stolons" étant partiellement enfouis dans le sable et bien accrochés par les "rhizoïdes", il n'était pas possible de les mesurer sans les endommager. Leur croissance se traduisant en général par l'apparition de nouvelles "feuilles", les observations ont porté essentiellement sur le nombre et la longueur des "feuilles" qui donnent une indication approximative sur la croissance générale de l'algue. GA_3 s'est montré particulièrement favorable à l'apparition de nouvelles "feuilles" puisqu'après un mois on en dénombre trois fois plus que chez les témoins, l'AIA y est légèrement favorable et la K semble n'avoir aucune influence (tableau 12). En ce qui concerne la croissance proprement dite des "feuilles", il semble que l'AIA soit le régulateur de croissance le plus favorable.

Date	24 octobre 1968		24 novembre 1968	
Mesures	Nb	LT	Nb	LT
T	14	614	24	1170
AIA	16	721	32	1620
GA_3	14	593	47	1410
K	15	692	22	1201

Tableau 12 : Influence des régulateurs de croissance sur la croissance et la morphogenèse de Caulerpa prolifera in situ. (T = témoin, Nb = nombre total de "feuilles" sur les cinq individus étudiés, LT = longueur totale en mm des "feuilles" des cinq individus étudiés. Traitement par la méthode de trempage au fond (Cf. p. 99), pendant une heure, à l'aide de récipients de 6 litres contenant 10 microgrammes de régulateur de croissance).

Ces résultats préliminaires ont été complétés par des expériences de culture d'algues entières ou de portions de thalle ("stolons" et "feuilles") dans le microphycotron. Cette vérification s'avérait nécessaire car les résultats obtenus en mer sont trop fragmentaires et peuvent être également perturbés par l'influence du "sol" dont la teneur en substances organiques n'est certainement pas uniforme.

Les tableaux 13 et 14 montrent l'action de l'AIA et de GA_3 sur des algues entières maintenues sans "sol" dans les récipients de culture (l'enrichissement en matières organiques de l'eau de mer est réalisé par un apport important d'extrait de terre). L'action la plus significative concerne les "stolons" qui s'accroissent de 51 mm au total pour les 6 algues témoins, de 65 mm pour les algues traitées par l'AIA et de 243 mm pour les algues traitées par GA_3. La stimulation de la croissance des "stolons" s'accompagne d'une accélération des processus morphogenétiques qui se traduit par la formation d'un nombre plus élevé de "rhizoïdes" et de "feuilles" sur les "stolons" sous l'action de l'AIA et de GA_3. L'AIA et GA_3 stimulent aussi la croissance des "feuilles" sur les "stolons" puisque la longueur totale augmente de 355 mm pour les témoins, de 432 mm avec l'AIA et de 603 mm avec GA_3. Il convient de souligner néanmoins à ce sujet que ce résultat provient en partie de l'apparition d'un nombre plus élevé de "feuilles" chez les algues traitées par l'AIA et GA_3 que chez les algues témoins. On note encore une accélération concomitante de l'apparition des "rhizoïdes" sous l'action de l'AIA et de GA_3. En ce qui concerne l'apparition de "feuilles" sur les "feuilles" ou sur les "pétioles", il semble que GA_3 soit moins favorable que l'AIA et que l'eau de mer pure.

Le tableau 15 montre que la K exerce une action légèrement défavorable sur la croissance des "stolons" et des "feuilles" sur les "stolons". Par contre elle favorise l'apparition et la croissance des "feuilles" sur les "feuilles".

c) Codium fragile

Cette algue, constituée par des cladomes multi-axiaux à structure coenocytique, se présente sous la forme de cordons massifs et spongieux à ramifications irrégulièrement dichotomiques. Elle a été étudiée exclusivement in situ, à proximité du rivage du Cap Croisette dans la banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône), au sein d'un biotope photophile infralittoral de mode calme. La station choisie est formée par un éboulis de rochers situé à 6 mètres de profondeur, elle est occupée par plusieurs pieds de Codium fragile qui se sont développés sur des morceaux de roche aisément transportables en plongée. Une collecte

DATE	PORTIONS DE THALLE	TEMOINS		AIA (1 microgramme/61)	
		NT	LT	NT	LT
30/10/71	FS	17	923	25	964
	FF	0	0	0	0
	FP	0	0	0	0
	E	0	0	0	0
	R	70	-	77	-
	St	6	596	6	770
20/11/71	FS	26 (9)	1176 (253)	40 (15)	1305 (341)
	FF	9	264	11	231
	FP	3	26	4	6
	E	3	1	3	3
	R	70 (0)	-	83 (6)	-
	St	6	602 (6)	6	819 (49)
30/11/71	FS	31 (14)	1278 (355)	44 (19)	1396 (432)
	FF	12	301	17	258
	FP	3	30	4	10
	E	10	8	19	15
	R	79 (9)	-	98 (21)	-
	St	6	647 (51)	6	835 (65)

Tableau 13 : Influence de l'AIA sur la croissance et la morphogenèse de Caulerpa prolifera in vitro. (NT = nombre total de portions de thalle considérées chez les six individus cultivés. LT = longueur totale en mm des portions de thalle considérées chez les six individus cultivés. FS = "feuille" sur "stolon", FF = "feuille" sur "feuille", FP = "feuille" sur "pétiole", E = excroissance indifférenciée, R = "rhizoïdes", St = "stolon". Entre parenthèses = différence du nombre ou de la longueur par rapport au 30/10/71. Conditions de culture : 18°C, éclairement naturel, 30 ml d'extrait de terre par bac de 6 litres).

DATE	PORTIONS DE THALLE	TEMOINS		GA_3 (6 microgrammes/61)	
		NT	LT	NT	LT
30/10/71	FS	17	923	19	918
	FF	0	0	0	0
	FP	0	0	0	0
	E	0	0	0	0
	R	70	-	62	-
	St	6	596	6	578
20/11/71	FS	26 (9)	1176 (253)	34 (15)	1496 (578)
	FF	9	264	3	80
	FP	3	26	6	6
	E	3	1	4	4
	R	70 (0)	-	72 (10)	-
	St	6	602 (6)	6	800 (222)
30/11/71	FS	31 (14)	1278 (355)	39 (20)	1521 (603)
	FF	12	301	5	115
	FP	3	30	10	82
	E	10	8	6	8
	R	79 (9)	-	81 (19)	-
	St	6	647 (51)	6	821 (243)

Tableau 14 : Influence de GA_3 sur la croissance et la morphogenèse de Caulerpa prolifera in vitro. (Même légende que pour le tableau 13).

DATE	PORTIONS DE THALLE	TEMOINS		K (0,5 microgramme/21)	
		NT	LT	NT	LT
30/10/71	FS	11	633	11	471
	FF	0	0	0	0
	FP	0	0	0	0
	E	0	0	0	0
	R	54	-	48	-
	St	5	373	5	475
20/11/71	FS	18 (7)	806 (173)	19 (8)	587 (116)
	FF	2	26	6	106
	FP	2	44	0	0
	E	9	-	9	-
	R	54	-	-	-
	St	5	-	5	-
30/11/71	FS	18 (7)	840 (207)	19 (8)	598 (123)
	FF	3	56	15	149
	FP	2	53	1	8
	E	18	-	17	-
	R	55 (1)	-	50 (2)	-
	St	5	404 (31)	5	476 (1)

Tableau 15 : Influence de la K sur la croissance et la morphogenèse de Caulerpa prolifera in vitro. (Même légende que pour le tableau 13).

autour du Cap Croisette a permis de compléter cette collection pour mener à bien l'expérience avec un nombre suffisant d'individus à l'aide de la méthode de traitement à l'extérieur (Cf. page 99). La figure 55 montre les résultats obtenus sur une durée de 30 jours. L'AIA accélère la croissance de ce Codium très légèrement au début de l'expérience, de façon plus importante à la fin.

d) Enteromorpha compressa

Cette Enteromorphe a été récoltée à proximité de la Pointe Rouge dans la banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône) au fond d'une cuvette rocheuse située au-dessus du niveau de la mer et occupée également par Enteromorpha intestinalis et par diverses Cladophores (biocénose à Enteromorpha intestinalis décrite à Banyuls par FELDMANN 1937). Enteromorpha compressa est constitué par la juxtaposition à partir de la base d'un grand nombre de tubes dressés qui peuvent atteindre 10 à 20 cm de longueur. Ces tubes, qui ne dépassaient pas 20 mm dans les échantillons prélevés (algue en pleine croissance) ont été séparés les uns des autres et cultivés dans le microphycotron à raison de 20 tubes par bac de culture.

Les résultats consignés dans la figure 56 montrent que l'AIA et GA_3 accélèrent la croissance des frondes isolées et plus particulièrement GA_3 qui en un mois a doublé pratiquement leur longueur par rapport à celle des témoins. La K n'exerce par contre aucune influence : elle est même légèrement inhibitrice. Des expériences de contrôle avec d'autres concentrations (0,1 et 10 microgrammes de K/100 ml d'eau de mer) n'ont pas donné de meilleurs résultats.

e) Ulva rigida

Cette espèce a été récoltée le 9 mars 1970 près du port de la Briquerie, entre la Pointe Nègre et le Brusc (Var), à 50 cm de profondeur, dans une station ombragée de mode semi-battu. Parmi les individus récoltés seuls ceux mesurant entre 4 et 5 cm de longueur ont été retenus. Des disques de 5 mm de diamètre ont été découpés dans le tiers supérieur des thalles à l'aide d'un "emporte pièces" conçu spécialement pour cet usage. Chaque bac de culture a reçu 20 disques calibrés d'Ulva lactuca et 500 ml d'eau de mer contenant 0,5 ml d'extrait de terre, 0,1 microgramme d'adénine et 1 microgramme d'antibiotique (kanamycine). Les disques d'Ulva ont été mesurés au dixième de mm.

La figure 57 montre les résultats obtenus avec différentes concentrations d'AIA, GA_3 et de K au bout d'un mois de culture. Les trois régulateurs de croissance employés accélèrent la croissance des disques d'Ulva mais à des concentrations différentes. GA_3 est surtout efficace entre 5 et 30 microgrammes, l'AIA entre 1 et 10 microgrammes et la K entre 10 et 30 microgrammes par litre.

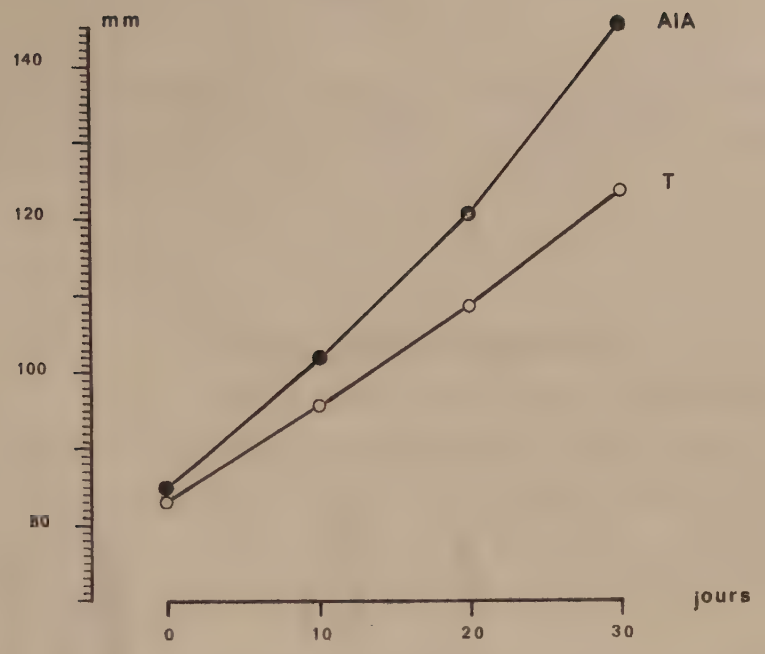


Figure 55 : Influence de l'AIA sur la croissance de Codium fragile in situ. (Ordonnées = longueur moyenne des 8 individus étudiés, T = témoin, les expériences ont eu lieu du 15/10/1968 au 14/11/1968. Méthode de traitement à l'extérieur (Cf. p. 99) à l'aide de récipients de 3 litres contenant 50 microgrammes d'AIA. Le traitement est réalisé le 1er, le 10ème et le 20 ème jour pendant 1 heure).

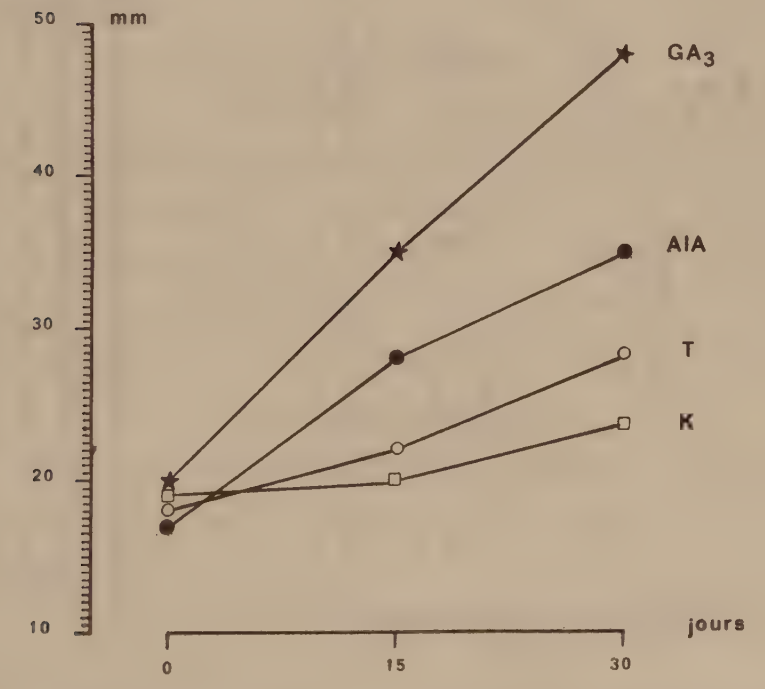


Figure 56 : Influence des régulateurs de croissance sur la croissance in vitro d'Enteromorpha compressa. (Ordonnées : moyenne en mm de la longueur de 20 frondes isolées, concentration des hormones : 1 microgramme/100 ml. Conditions de culture : 20°C, courbe éclairement 6 h de jour avec un maximum de 600 lux, oxygénation, extrait de terre : 0,5 ml/100 ml).

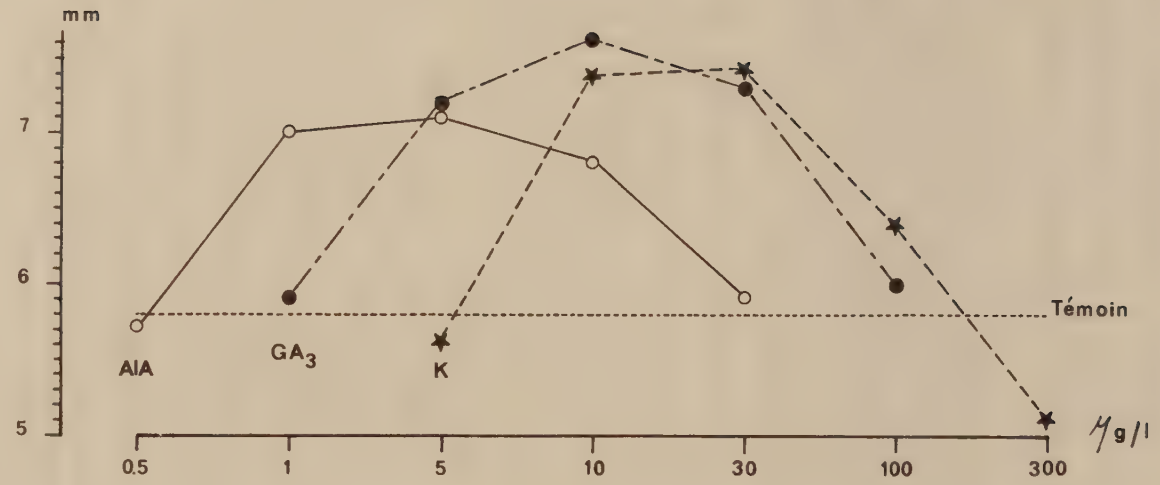


Figure 57 : Influence des régulateurs de croissance sur la croissance in vitro de disques isolés du thalle d'Ulva rigida. (Ordonnées : moyenne du diamètre de 20 disques, abscisses : concentration des régulateurs de croissance en microgrammes par litre. Conditions de culture : 18°C, courbe d'éclairement de 5 h de jour avec un maximum de 200 lux, oxygénation. Durée culture : 1 mois).

Des essais réalisés avec l'ANA ont montré que cette substance inhibe la croissance des disques d'Ulve à toutes les concentrations employées (0,5 à 100 microgrammes/litre).

2°) Phéophycées

a) Dictyopteris membranacea

Cette algue a été étudiée in situ par la méthode de "trempage au fond", à l'entrée d'une grotte entre Carry-le-Rouet et Sausset les Pins (Bouches-du-Rhône). Elle forme de petits peuplements quasiment monospécifiques, en position semi-sciaphile, entre 30 et 50 cm de profondeur. Trois stations différentes ont été choisies pour étudier respectivement l'action de l'AIA, de GA_3 et de la K sur la croissance(1).

Cette algue est vivace par sa base, les frondes dressées sont annuelles et se développent à la fin de l'hiver. L'expérience consistait à voir l'influence des régulateurs de croissance sur la vitesse de croissance de ces frondes nouvellement formées. La figure 58 montre que l'AIA (A), comme GA_3 (B) accélèrent la croissance des frondes en milieu naturel. Cette algue étant particulièrement difficile à cultiver en laboratoire, ces expériences n'ont pu être contrôlées in vitro.

b) Dilophus fasciola

Cette espèce a surtout permis de montrer l'influence des facteurs de croissance sur la multiplication végétative (voir plus loin). En ce qui concerne la croissance, les résultats obtenus ne sont pas satisfaisants. Les écarts dans les mensurations sont en effet trop faibles pour qu'il soit possible d'en tirer des conclusions valables. Il semble à ce sujet que les conditions de culture en laboratoire ne soient pas favorables à la croissance de cette algue.

c) Halopteris scoparia

Cette espèce a été récoltée le 23 octobre 1970 au Grand Gaou près du Brusc (Var) par 3 mètres de fond, dans son biotope photophile de mode calme classique.

L'algue forme des touffes compactes et ramifiées en tout sens qui ne permettent pas de l'étudier en milieu naturel où les mesures sont impossibles à réaliser avec précision. Il n'a pas été possible également de cultiver l'algue entière au laboratoire. L'expérience a porté seulement sur les rameaux

---

(1) Avant la première mesure, j'ai malheureusement trouvé la dernière station endommagée (thalles arrachés et déchiquetés). Quatre semaines après, le même phénomène allait mettre fin aux expériences dans les deux autres stations.

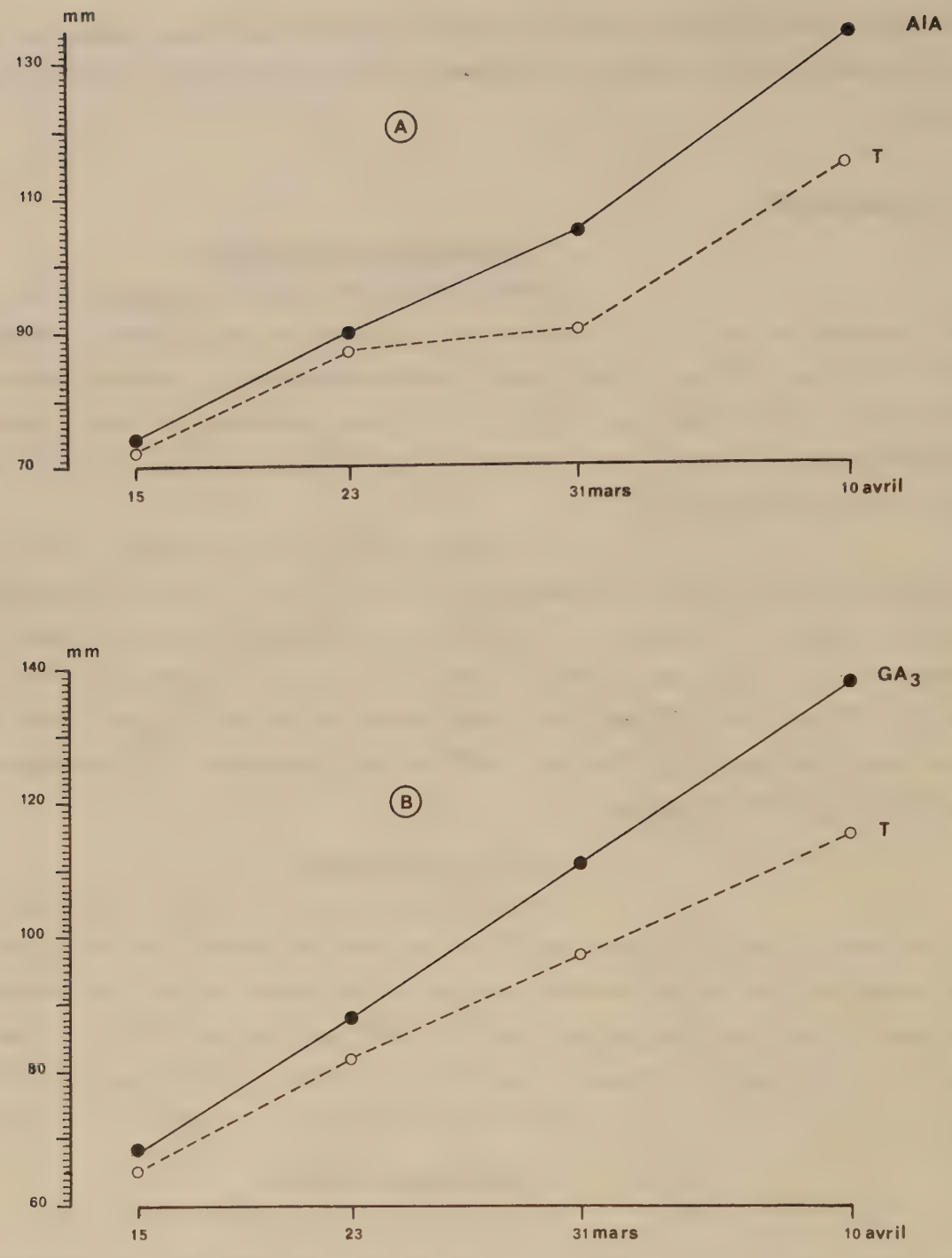


Figure 58 : Influence de l'AIA (A) et de GA_3 (B) sur la croissance in situ de Dictyopteris membranacea. (Ordonnées : longueur moyenne des 6 individus étudiés. Méthode de traitement à l'extérieur, après chaque mesure, à l'aide de récipients de 1 litre contenant soit 5 microgrammes d'AIA, soit 10 microgrammes de GA_3. Les expériences ont eu lieu du 15 mars au 10 avril 1967).

secondaires isolés de la plante mère et repiqués sur agar. Ces rameaux sont en général rectilignes et facilement mesurables.

Les résultats obtenus (fig. 59) montrent que les régulateurs de croissance employés ont une influence positive, négative ou nulle selon leur concentration. Le maximum d'efficacité est obtenu avec les concentrations de 1 microgramme/litre pour l'AIA et 10 microgrammes/l pour GA_3 ou la K.

Il convient de signaler que d'autres expériences de culture conduites avec de l'eau de mer non additionnée d'extrait de terre n'ont pas fourni de résultats bien probants, la croissance des tissus étant en grande partie inhibée.

3°) Rhodophycées

a) Petroglossum nicaeense

Cette espèce a été récoltée le 11 février 1970 à Callelongue, dans la banlieue Est de Marseille (Bouches-du-Rhône) au niveau d'un encorbellement à Lithophyllum tortuosum, dans le Petroglosso-placamietum, biocénose classique des biotopes sciaphiles superficiels de mode battu (AUGIER et al. 1971). La fronde en forme de langue mince et allongée présente à sa base des "stolons" rampants solidement accrochés au substratum. Les échantillons sélectionnés en laboratoire avaient entre 20 et 30 mm de longueur ; ils ont été mis en culture dans le microphycotron pendant 4 mois en raison de 10 individus par bac de culture. La croissance des frondes pendant cette période s'est avérée négligeable dans les bacs témoins comme dans ceux contenant des régulateurs de croissance. Ainsi qu'il est possible de le remarquer parfois en milieu naturel, la croissance des thalles est remplacés par la formation d'excroissances qui donneront naissance soit à de nouvelles frondes soit à de nouveaux "stolons". Les expériences ont révélé que les régulateurs de croissance ont une influence non seulement sur la formation de ces excroissances (fig. 60 et 61) mais également sur leur croissance et leur différenciation progressive en frondes et "stolons" juvéniles (fig. 62, 63 et 64).

Les figures 62 et 63 montrent l'action de l'AIA, de GA_3 et de la K sur la formation et la croissance des nouvelles frondes. L'AIA se révèle le plus efficace sur la croissance : au bout de 4 mois de culture et avec une concentration de 0,2 microgramme pour 250 ml de milieu de culture, la longueur totale atteinte par les nouvelles frondes a plus que doublé par rapport aux témoins. La K, moins efficace que GA_3, exerce néanmoins une influence favorable sur la croissance des frondes, plus particulièrement à la concentration de 20 microgrammes pour 250 ml de milieu de culture. L'activité de GA_3 est beaucoup plus faible : son action

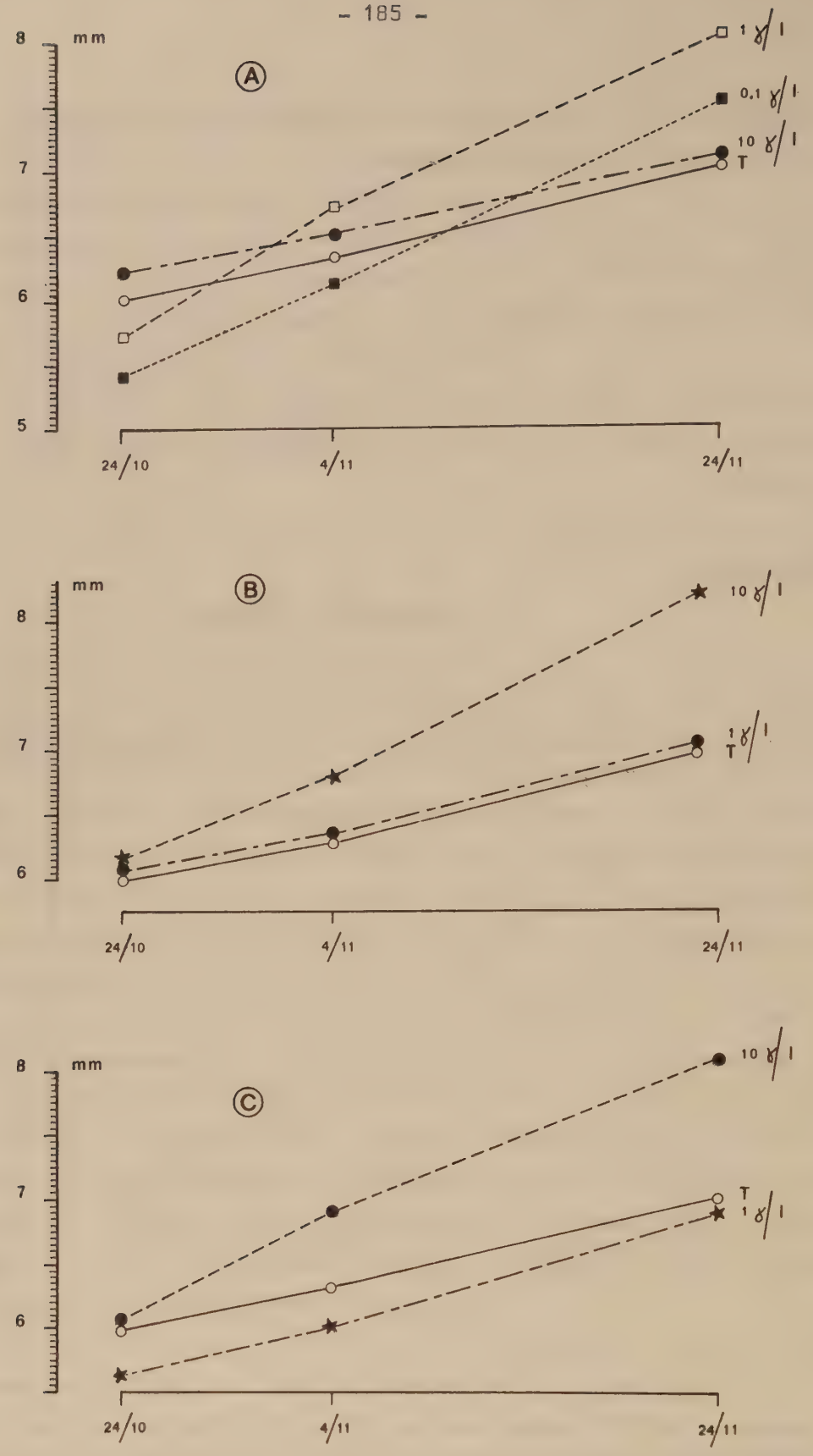


Figure 59 : Influence in vitro de l'AIA (A), de GA_3 (B) et de la K (C) à différentes concentrations sur la croissance des rameaux isolés d'Halopteris scoparia. (Ordonnées : longueur moyenne de 10 rameaux. Conditions de culture : 20°C, courbe d'éclairement de 5 h avec un maximum de 400 lux, extrait de terre 0,1 ml par bac de 500 ml).

est soit légèrement favorable (0,2 microgramme/250 ml), soit légèrement défavorable (2 et 20 microgrammes/250 ml).

Par ailleurs, l'AIA et la K sont défavorables à la croissance des nouveaux "stolons" (fig. 64) quelle que soit la concentration utilisée. Après 4 mois de culture, GA_3 se montre par contre légèrement favorable aux concentrations de 2 et 20 microgrammes pour 250 ml de milieu de culture.

Enfin d'autres expériences, décrites plus loin, ont permis de mettre en évidence l'influence des substances de croissance sur l'apparition et la croissance de néoformations sur des portions de thalle de Petroglossum nicaeense (fig. 65). L'AIA freine la croissance de ces néoformations à toutes les concentrations utilisées, la K est légèrement favorable à 0,1 et 1 microgramme pour 250 ml de milieu de culture et enfin GA_3 est particulièrement actif à 0,1 et 1 microgramme pour 250 ml de milieu de culture (allongement pratiquement doublé par rapport à celui des témoins).

b) Porphyra leucosticta

Cette espèce a été récoltée le 2 avril 1969 à proximité de la Pointe Rouge dans la banlieue Est de Marseille (Bouches-du-Rhône) où elle forme une ceinture saisonnière caractéristique sur les rochers du médiolittoral supérieur. Les expériences ont été réalisées conjointement sur les thalles entiers et sur des fragments de tissus prélevés à l'emporte pièces, elles ont permis d'étudier l'action de GA_3 sur la croissance de cette algue rouge cultivée pendant un mois dans le microphycotron.

Les résultats obtenus sur les algues entières (tableau 16) montrent que GA_3 accélère légèrement la croissance des thalles aux concentrations de 1 et 10 microgrammes par litre et qu'il n'a pas d'action notable à la concentration de 100 microgrammes par litre ; le maximum d'efficacité est obtenu avec la concentration de 10 microgrammes par litre. L'effet bénéfique sur la croissance se traduit par une augmentation, non seulement de la longueur du thalle, mais également de sa largeur.

Les expériences sur les portions de tissus isolées du thalle ont été réalisées selon la méthode employée également pour l'étude d'Ulva rigida. Des disques de 5 mm de diamètre ont été découpés à l'emporte pièces dans la moitié supérieure des thalles mesurant entre 30 et 32 mm de longueur et 14 à 17 mm de largeur. Vingt disques ont été ensemencés dans chaque bac de culture contenant 500 ml d'eau de mer additionnée d'extrait de terre (5 ml), de K (0,01 microgramme) et de vitamine B12 (0,01 microgramme). Le diamètre des disques de Porphyra a été mesuré en fin d'expérience, au dixième de mm. La figure 60 montre

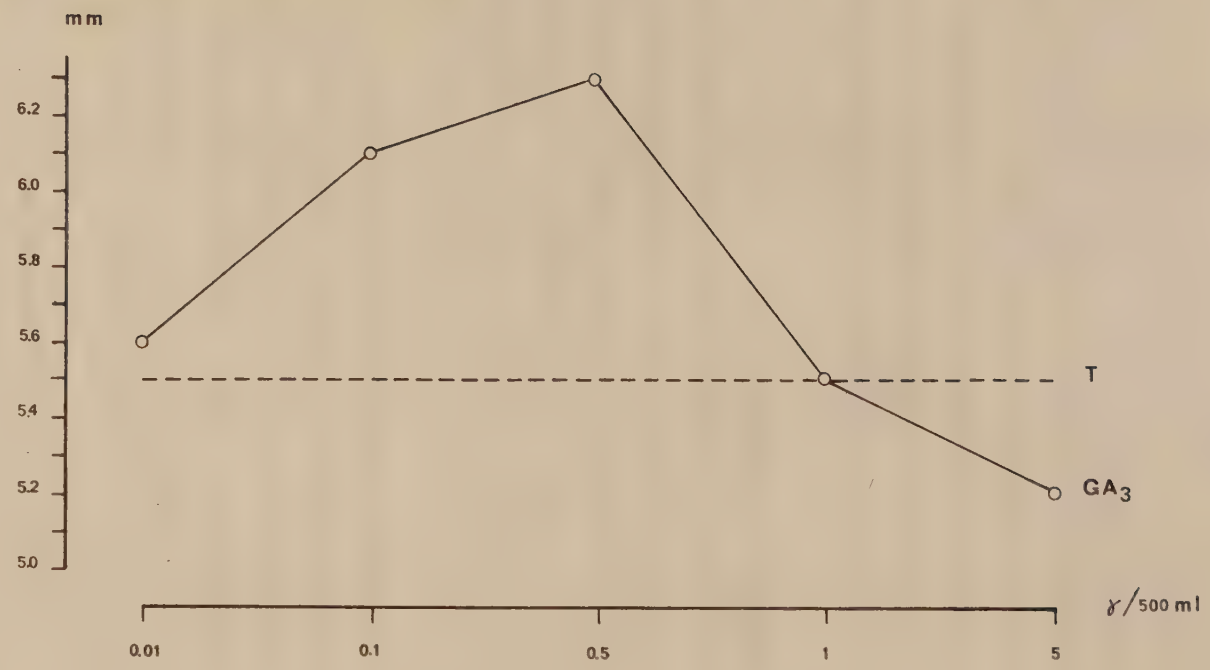


Figure 60 : Influence de GA_3 sur la croissance in vitro de disques isolés du thalle de Porphyra leucosticta. (Ordonnées : moyennes des diamètres de 20 disques, abscisses : concentration de GA_3 en microgrammes/500 ml. Conditions de culture : 16°C, courbe d'éclairement avec un maximum de 1500 lux, 8 h de jour, oxygénation).

les résultats obtenus avec différentes concentrations de GA_3 au bout d'un mois de culture.

Concentrations en microgrammes/litre	D A T E S	
	3/4/1969	3/5/1969
T	32 x 15	36 x 18
1	32 x 16	38 x 19
10	32 x 17	45 x 23
100	31 x 16	36 x 18

Tableau 16 : Influence in vitro de GA_3 sur la croissance de Porphyra leucosticta. (Les chiffres représentent la longueur x la largeur moyennes des 10 individus de chaque lot exprimée en mm. Conditions de culture : courbe d'éclairement de 8 h de jour avec un maximum de 1200 lux, 16°C, oxygénation).

II. - VIE RALENTIE

Les études ont été réalisées sur une seule espèce : la Rhodophycée Rissoella verruculosa.

Les expériences ont eu lieu sur les rochers battus par les vagues de l'ancien îlot du Petit Gaou, au Brusc (Var). Rissoella verruculosa forme, à ce niveau, avec Nemalion helminthoïdes, une biocénose caractéristique de l'étage médiolittoral supérieur de mode battu (AUGIER et al. 1971).

Les frondes dressées de cette algue sont insérées sur un large disque brunâtre solidement appliqué sur les rochers. En octobre-novembre, les frondes disparaissent progressivement et chaque plante n'est plus représentée que par un disque vivace qui est couvert de nombreuses petites pousses cylindriques mesurant à peine 1 mm de hauteur. L'algue demeure en vie ralentie sous cette forme jusqu'en janvier-février puis les petites pousses donnent progressivement naissance aux frondes qui atteignent leur taille maximale en mai-juin.

Les expériences réalisées en 1968-69 et en 1971-72 consistaient à badigeonner les rochers couverts de disques vivaces avec de la lanoline contenant la substance de croissance (AIA, GA_3 et K).

En 1968-69, deux applications successives de lanoline, l'une en décembre, l'autre en janvier, n'ont provoqué aucune néoformation accélérée des frondes dressées. Il en fut de même en 1971-72.

III. - MORPHOGENESE ET MULTIPLICATION VEGETATIVE

Au cours des expériences concernant la croissance nous avons constaté fortuitement l'influence des substances de croissance sur la morphogenèse et la multiplication végétative des algues. C'est le cas en particulier des thalles entiers de Bryopsis muscosa, Caulerpa prolifera et Petroglossum nicaeense ainsi que des fragments de thalle de Caulerpa prolifera, Ulva rigida et Porphyra leucosticta. Des expériences complémentaires ont permis de préciser les modalités de cette action.

1°) Caulerpa prolifera

Les expériences réalisées in situ à Antibes (Alpes-Maritimes) ont montré l'influence particulièrement favorable de GA_3 sur la néoformation de "feuilles" sur la plante entière (tableau 12). Elles ont révélé également que la K ne semble pas avoir d'action sur ce phénomène et que l'AIA y est favorable mais à un degré plus faible que celui de GA_3.

Les expériences in vitro ont permis de confirmer et de compléter ces résultats. L'AIA exerce une action positive sur la néoformation des "feuilles" sur les "stolons", des "feuilles" sur les "feuilles", des "feuilles" sur les "pétioles" et des "rhizoïdes" sur les "stolons" (tableau 13). GA_3 (tableau 14) est défavorable à la néoformation des "feuilles" sur les "feuilles", légèrement favorable à celle des "feuilles" sur les "stolons" et particulièrement actif sur celle des "feuilles" sur les "pétioles" et des "rhizoïdes" sur les "stolons". Les algues traitées avec la K (tableau 15) réagissent comme les témoins sauf pour la néoformation des "feuilles" sur les "feuilles" qui est particulièrement accélérée par cette substance.

L'étude a porté également sur des fragments isolés du thalle : "stolons", "feuilles", "fractions de feuilles". Les Caulerpes ayant une structure coenocytique, une section du thalle provoque l'écoulement d'une petite quantité du liquide vacuolaire qui s'arrête au bout de quelques secondes. Il convient alors de garder quelques jours en culture ces fragments isolés du thalle en changeant fréquemment le milieu nutritif avant leur utilisation.

Le tableau 17 montre l'influence des substances de croissance sur l'apparition de néoformations sur des "stolons" isolés du reste du thalle et ayant tous 50 mm de longueur et le même nombre de "rhizoïdes". Les protubérances qui apparaissent se transforment au bout de 15 jours de culture soit en jeunes "feuilles" morphologiquement normales soit en néoformations filamenteuses

qui au bout d'un mois de culture ne se sont pas différenciées en "feuilles" ou en "stolons". L'AIA, la K et le 2.4-D n'exercent pas d'influence significative sur la néoformation des "feuilles" sur les "stolons", l'adénine inhibe cette formation et GA_3 la favorise (planche I). Il convient de remarquer que la K et surtout GA_3 exercent une action particulièrement efficace sur la croissance des "feuilles". En ce qui concerne les néoformations filamenteuses, l'adénine est favorable à leur genèse et à leur croissance au détriment semble-t-il de celles des "feuilles" nouvellement formées (planche I) ; l'action des autres produits est négligeable. Il convient de mentionner encore qu'au bout d'un mois de culture le nombre de néoformations indifférenciées a pratiquement doublé sous l'action de l'AIA et de la K par rapport aux témoins.

La culture des "feuilles" isolées du reste du thalle engendre la néoformation de protubérances et de filaments indifférenciés, de "feuilles" et de "stolons". Le tableau 18 montre que seul GA_3 provoque la néoformation de "stolons" sur les "feuilles" entières (planche I). La néoformation de "feuilles" sur ces "feuilles" est augmentée par les trois substances utilisées et plus particulièrement par la K (planche I) et l'AIA. L'action sur l'apparition des néoformations filamenteuses est nulle avec la K et négative avec l'AIA et GA_3.

Les résultats obtenus avec des "feuilles" coupées en deux transversalement et des "feuilles" privées d'apex sont consignés dans le tableau 19. Sur les "demi-feuilles" supérieures, seules des néoformations indifférenciées apparaissent, leur nombre n'est influencé ni par l'AIA ni par GA_3 ; par contre il est doublé par la K qui est également la seule substance à provoquer l'apparition de "rhizoïdes" (planche II). Le nombre de néoformations apparues sur la "demi-feuille" inférieure est plus important que sur la "demi-feuille" supérieure mais les substances de croissance ne semblent pas avoir une influence notable aussi bien sur l'apparition des "feuilles" que sur celle des "stolons" et des "rhizoïdes", l'AIA et GA_3 exerçant même parfois une légère action inhibitrice (planche II). Enfin dans le cas des "feuilles" privées d'apex le pouvoir morphogenétique augmente de façon considérable (planche II). On note non seulement l'apparition de protubérances indifférenciées et de néoformations de "feuilles" et de "stolons" mais également l'apparition de nouvelles néoformations sur les néoformations déjà en place : protubérances indifférenciées sur les néoformations de "feuilles" ou de "stolons", néoformations de "rhizoïdes" sur les néoformations de "feuilles" et néoformations de "feuilles" sur les néoformations de "stolons" (tableau 19). La K a dans tous les cas une action inhibitrice. Quant à GA_3 et à l'AIA ils n'exercent en général aucune influence sauf sur la néoformation des "feuilles" qui est augmentée par l'AIA et inhibé par GA_3.

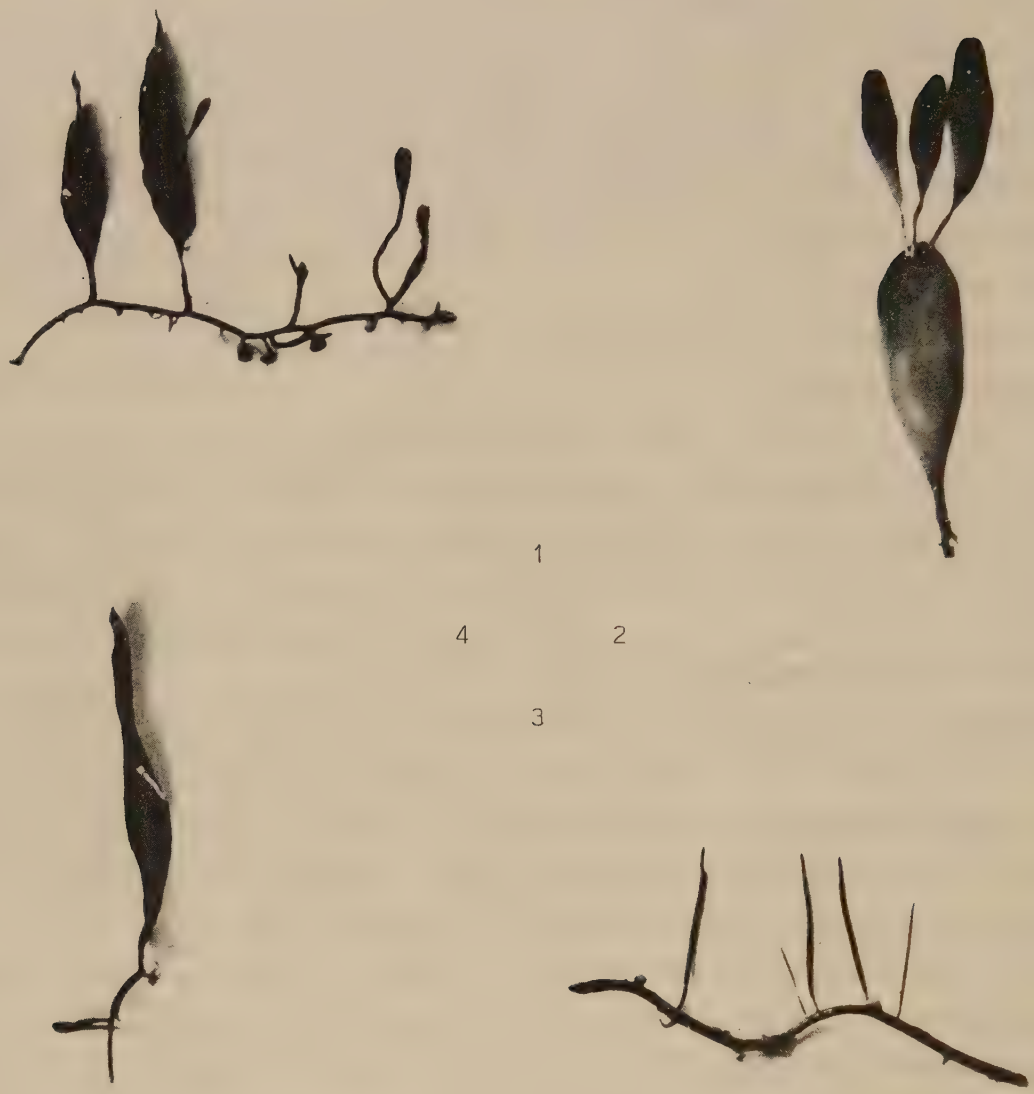


Planche I : Quelques exemples de l'influence des substances de croissance sur l'apparition de néoformations sur des "stolons" (1 et 3) ou des "feuilles" (2 et 4) isolés du reste du thalle de Caulerpa prolifera. (1 = néoformations de "feuilles" sur un "stolon" cultivé en présence de GA_3, 3 = néoformations filamenteuses indifférenciées sur un "stolon" cultivé en présence d'adénine, 2 = néoformations de "feuilles" sur une "feuille" cultivée en présence de K, 4 = néoformation d'un "stolon" (portant deux petites néoformations de "feuilles") sur une "feuille" cultivée en présence de GA_3).

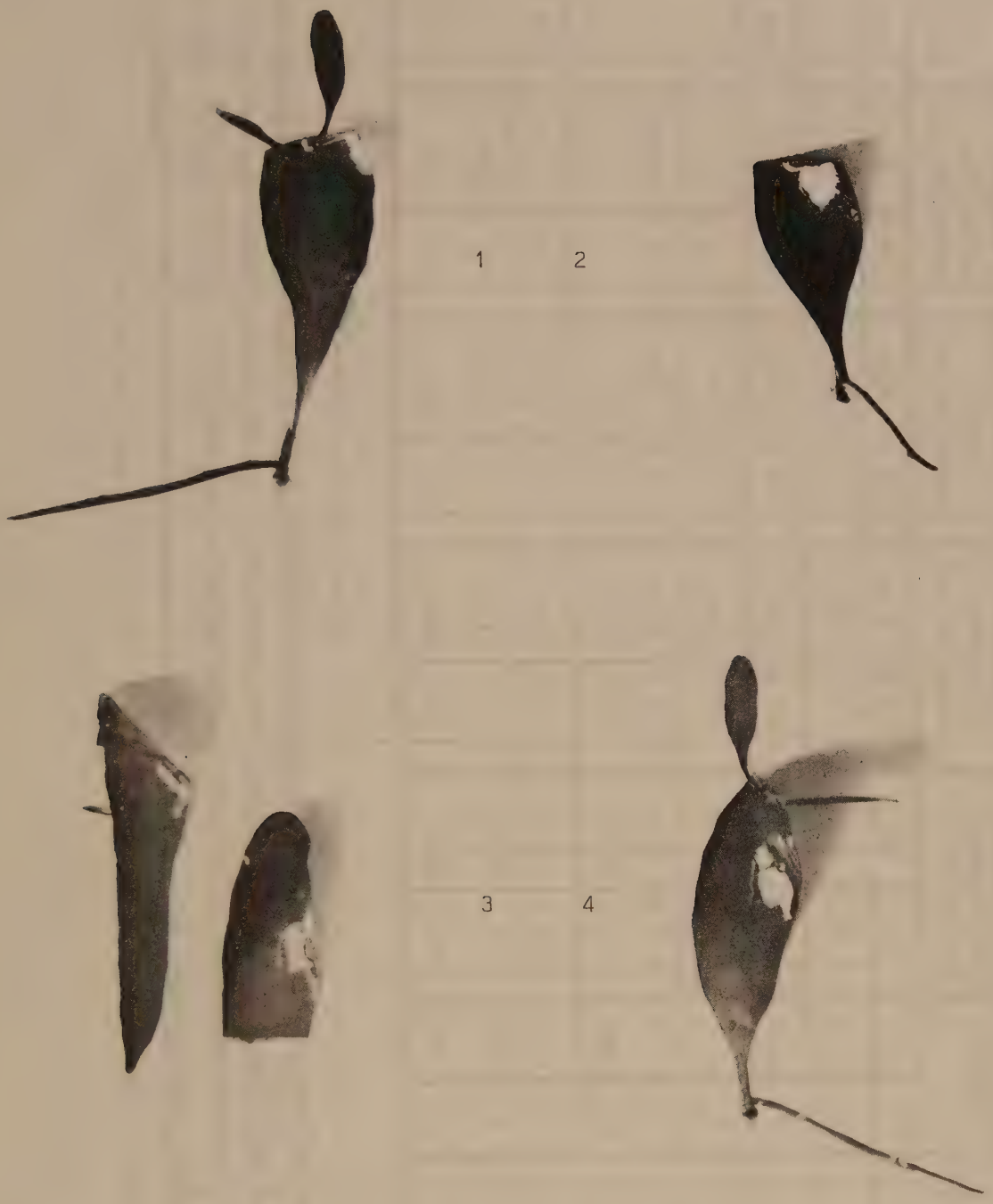


Planche II : Quelques exemples de l'influence des substances de croissance sur l'apparition de néoformations sur des "feuilles" isolées du reste du thalle de Caulerpa prolifera et coupées en deux transversalement (1, 2, 3) ou privées d'apex (4). (1 = néoformations de deux "feuilles" et d'un "stolon" sur une "demi-feuille" inférieure cultivée sans hormone, 2 = néoformation d'un "stolon" sur une "demi-feuille" inférieure cultivée en présence d'AIA, 3 = à droite : "demi-feuille" supérieure cultivée sans substance de croissance, à gauche : "demi-feuille" supérieure cultivée en présence de K, cette dernière présente une néoformation marginale indifférenciée, 4 = "feuille" privée d'apex, cultivée sans hormones et présentant deux néoformations de "feuilles" (celle de droite est vue de profil) et une de "stolon").

DATE	DIFFERENTES NEOFORMATIONS APPARUES	TEMOINS		AIA (0,3 microgramme/250 ml)		GA_3 (0,3 microgramme/250 ml)		K (0,3 microgramme/250 ml)		ADENINE (0,3 microgramme/250 ml)		2.4-D (0,3 microgramme/250 ml)	
		SN	SL	SN	SL	SN	SL	SN	SL	SN	SL	SN	SL
30/10/1971	PI	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10/11/1971	PI	22	-	22	-	27	-	17	-	10	-	20	-
20/11/1971	PI	6	-	12	-	15	-	11	-	3	-	8	-
	NFI	6	59	8	86	3	10	0	0	11	108	1	10
	NF	10	208	10	230	13	323	12	280	0	0	11	219
30/11/1971	PI	9	-	18	-	8	-	16	-	5	-	4	-
	NFI	7	95	8	135	8	42	6	61	11	128	4	25
	NF	11	273	11	291	15	406	12	331	2	42	11	260

Tableau 17 : Influence de quelques substances de croissance sur l'apparition et la croissance de néoformations sur des "stolons" isolés du reste du thalle de Caulerpa prolifera.(SN = somme de toutes les néoformations apparues sur les cinq "stolons" cultivés. SL = somme des longueurs en mm atteintes par toutes les néoformations apparues sur les cinq "stolons" cultivés. PI = protubérances indéterminées, NFI = néoformations filamenteuses indéterminées. NF = néoformations de "feuilles". Conditions de culture : 18°C, éclairement naturel, 1,5 ml d'extrait de terre par bac de 250 ml).

DATE	DIFFERENTES NEOFORMATIONS APPARUES	TEMOINS		AIA (0,6 microgramme/500 ml)		GA_3 (0,6 microgramme/500 ml)		K (0,6 microgramme/500 ml)	
		SN	SL	SN	SL	SN	SL	SN	SL
30/10/1971	PI	0	0	0	0	0	0	0	0
10/11/1971	PI	9	2	12	9	13	4	6	4
	NF	2	10	2	15	3	18	8	91
20/11/1971	PI	9	6	12	9	13	4	7	4
	NFI	0	0	0	0	1	15	1	9
	NF	2	21	4	48	3	57	8	146
30/11/1971	PI	4	4	12	10	8	9	2	2
	NSt	0	0	0	0	2	35	0	0
	NFI	5	39	1	10	1	5	5	52
	NF	2	27	4	54	3	68	8	158

Tableau 18 : Influence de quelques substances de croissance sur l'apparition et la croissance de néoformations sur des "feuilles" entières isolées du reste du thalle de Caulerpa prolifera.
(Même légende que pour le tableau 17. NSt = néoformations de "stolons").

PORTIONS DE "FEUILLES"	DATE	DIFFERENTES NEOFORMATIONS APPARUES	TEMOINS		AIA (0,6 microgramme/500 ml)		GA_3 (0,6 microgramme/500 ml)		K (0,6 microgramme/500 ml)	
			SN	SL	SN	SL	SN	SL	SN	SL
DEMI-"FEUILLE" SUPERIEURE	15/11/1971	PI	0	0	0	0	0	0	0	0
	30/11/1971	PI	2	3	2	3	2	7	4	36
		NR	0	0	0	0	0	0	1	6
DEMI-"FEUILLE" INFERIEURE	15/11/1971	PI	0	0	0	0	0	0	0	0
	30/11/1971	PI	5	17	3	14	1	6	4	15
		NR	7	-	2	-	2	-	8	-
		NSt	2	61	0	0	1	15	3	63
		NF	4	83	4	81	2	41	5	96
"FEUILLE" SANS APEX	15/11/1971	PI	0	0	0	0	0	0	0	0
	30/11/1971	NSt	6	301	4	73	5	266	0	0
		NF	1	12	4	71	0	0	0	0
		NPI/NSt	5	24	1	5	2	7	0	0
		NPI/NF	5	-	1	15	0	0	0	0
		NR/NSt	5	-	1	-	5	-	0	0
		NR/NF	5	-	4	-	5	-	2	-
		NF/NSt	3	47	2	27	1	26	0	0

Tableau 19 : Influence de quelques substances de croissance sur l'apparition et la croissance de néoformations sur des fragments de "feuilles" isolés du reste du thalle de Caulerpa prolifera. (Même légende que pour les tableaux 17 et 18 avec en plus : NR = néoformations de "rhizoïdes". Dans cette expérience on note également l' l'apparition de nouvelles néoformations sur les néoformations déjà en place : néoformations de protubérances indifférenciées sur les néoformations de "feuilles" = NPI/NF, néoformations de protubérances indifférenciées sur les néoformations de "stolons" = NPI/NSt, néoformations de "rhizoïdes" sur les néoformations de "stolons" = NR/NSt, néoformations de "rhizoïdes" sur les néoformations de "feuilles" = NR/NF, néoformation de "feuilles" sur les néoformations de "stolons" = NF/NSt).

2°) Petroglossum nicaeense

Cette espèce a fait l'objet de deux études distinctes : la première sur des thalles entiers, la seconde sur des portions de tissus isolés.

Je ne reviendrai pas sur les conditions expérimentales précédemment décrites à propos de la croissance. Les figures 61 et 62 montrent clairement l'influence favorable des substances de croissance sur le nombre de néoformations (protubérances indifférenciées + néoformations de frondes et de "stolons") apparues en 5 mois de culture sur les thalles entiers de Petroglossum nicaeense. GA_3 se révèle le plus efficace au taux de 2 microgrammes/250 ml de milieu de culture (le nombre de néoformations a pratiquement doublé) ; c'est ensuite l'AIA, plus particulièrement à la concentration de 0,2 microgramme/250 ml de milieu de culture, et enfin la K au taux de 2 et 20 microgrammes/250 ml de milieu de culture.

Les figures 63 et 64 montrent l'action des substances de croissance sur la néoformation de frondes sur les thalles entiers. Au bout de 5 mois de culture, le nombre de néoformations de frondes par rapport aux témoins est augmenté de 265 % en présence d'AIA, de 212 % sous l'action de GA_3 et de 187 % avec la K. Le taux maximal d'efficacité varie avec la substance utilisée : 0,2 microgramme/250 ml de milieu de culture pour GA_3 et pour l'AIA et 20 microgrammes/250 ml de milieu de culture pour la K. En ce qui concerne la néoformation des "stolons" sur les thalles entiers (fig. 65), GA_3 l'augmente de 250 %, la K de 185 % et l'AIA de 178 % au bout de 5 mois de culture dans le microphycotron. Le taux maximal d'efficacité est de 20 microgrammes/250 ml de milieu de culture pour l'AIA et pour la K, 2 microgrammes/250 ml de milieu de culture pour GA_3. Il convient de souligner que l'action des substances de croissance prend fin après le quatrième mois de culture du moins en ce qui concerne la morphogenèse.

Une deuxième série d'expériences a été réalisée sur des fragments de thalle cultivés du 24 mars au 24 mai 1971. Elles consistaient à découper des bandes de tissu de 3 mm de largeur et de 6 mm de longueur à 10 mm du sommet des frondes mesurant uniformément 30 mm de longueur. Chaque lot comprenait 10 fragments de tissu cultivés dans 100 ml de milieu de culture. Dans ces conditions les tissus isolés ne donnent naissance ni à de nouvelles frondes ni à des "stolons" mais à des néoformations filamenteuses dont le nombre et la longueur sont influencés par les substances de croissance. La figure 66 et la planche III montrent que l'AIA appliqué aux taux de 0,1, 1 et 10 microgrammes/100 ml de milieu de culture ralentit la formation de ces néoformations, que la K a une action légè-

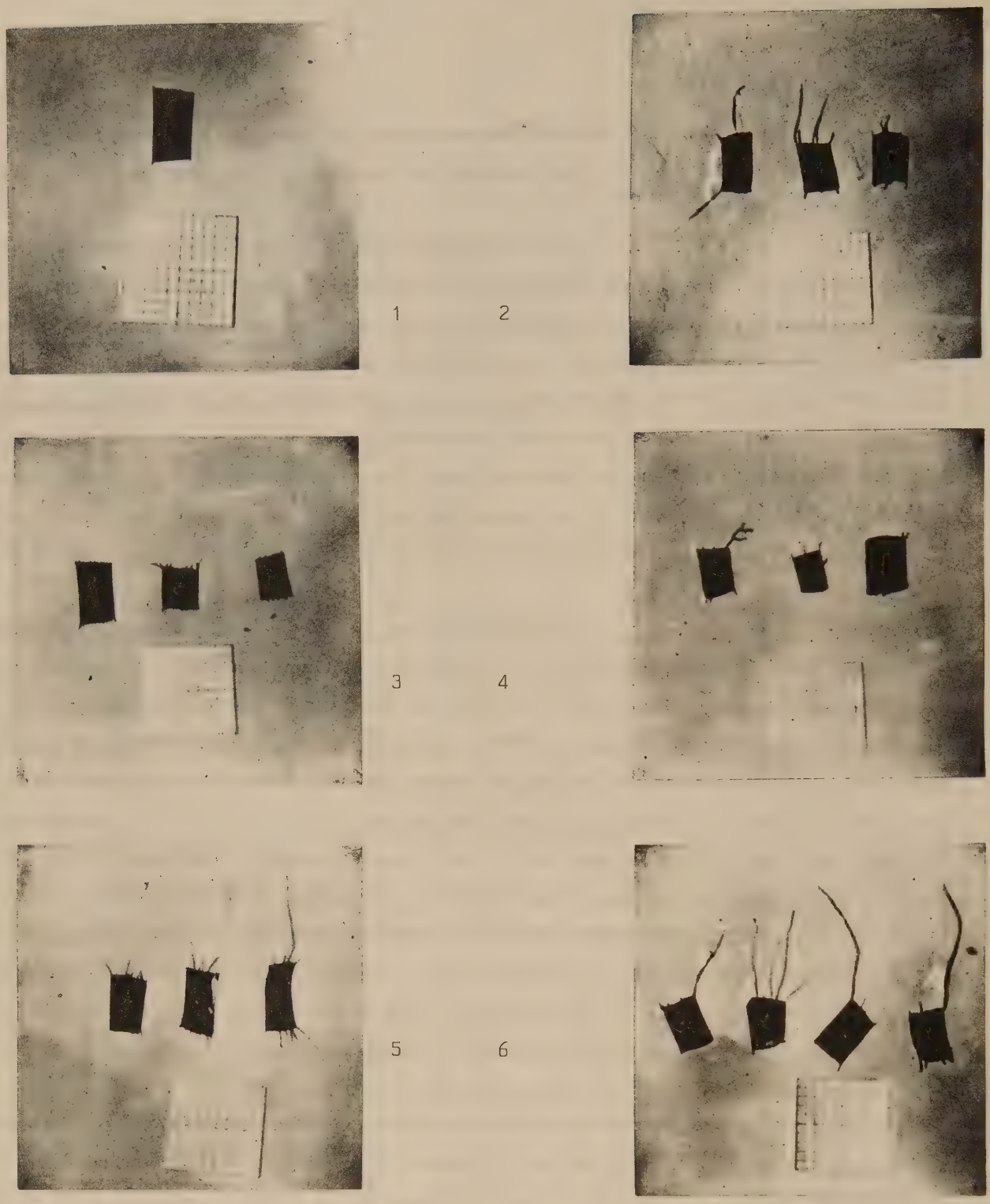


Planche III : Quelques exemples de l'influence des substances de croissance sur l'apparition et la croissance de néoformations filamenteuses sur des fragments de thalle de Petroglossum nicaeense en culture pendant deux mois. (Fragments de thalle au début de l'expérience (1), fragments de thalle témoins à la fin de l'expérience (2), fragments de thalle cultivés en présence de 2.4-D (3), d'AIA (4), de K (5) et de GA_3 (6).

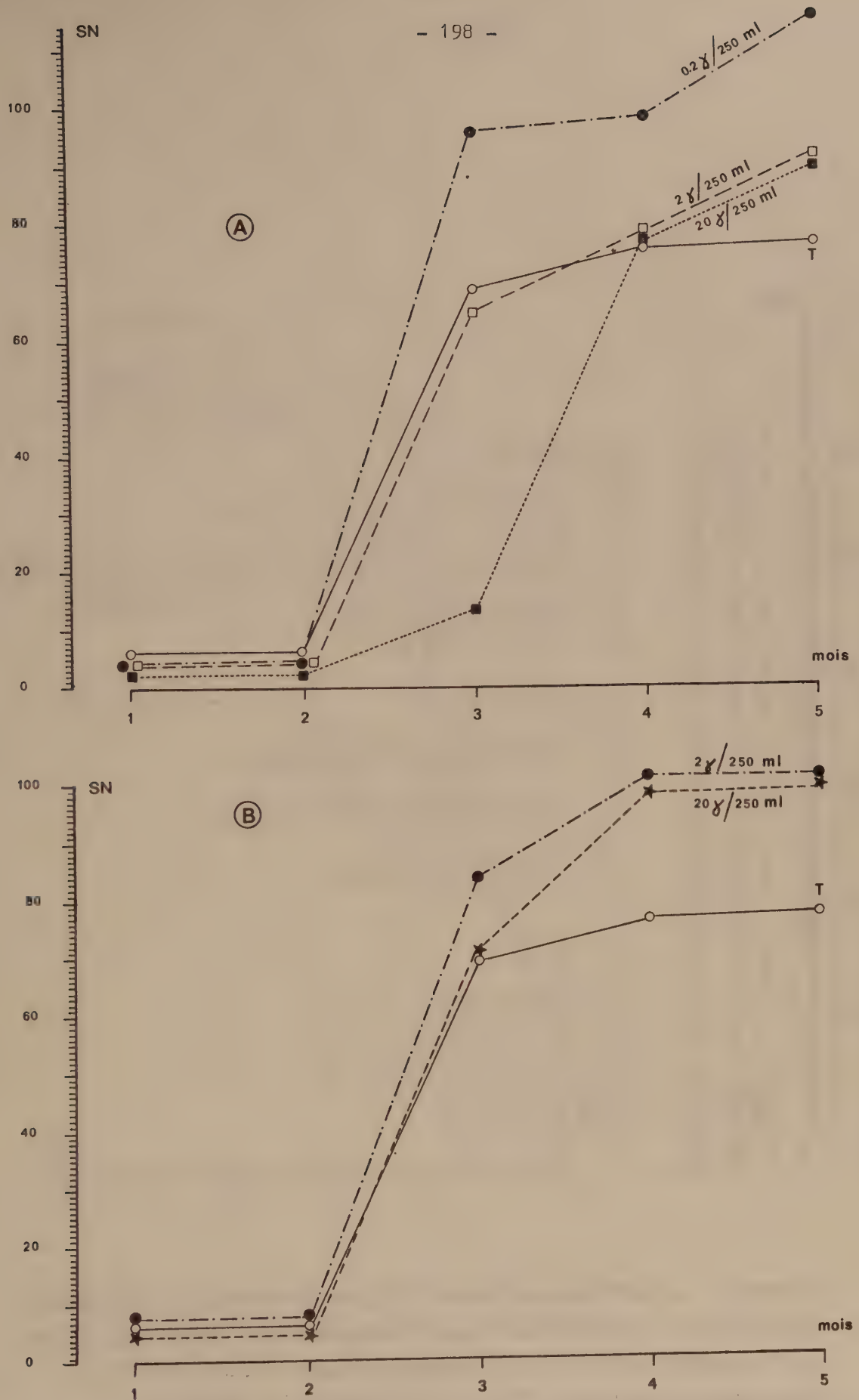


Figure 61 : Influence, in vitro, de l'AIA (A) et de la K (B) sur le nombre de néoformations (protubérances indifférenciées + néoformations de frondes et de "stolons") apparues, en 5 mois de culture, sur les thalles entiers de Petroglossum nicaeense. (SN = somme de toutes les néoformations apparues dans chaque lot de 10 individus. En abscisses : nombre de mois de culture. Conditions de culture : eau de mer 250 ml + 1 ml d'extrait de terre, courbe d'éclairement de 5 h de jour avec un maximum de 50 lux, 17-19°C oxygénation).

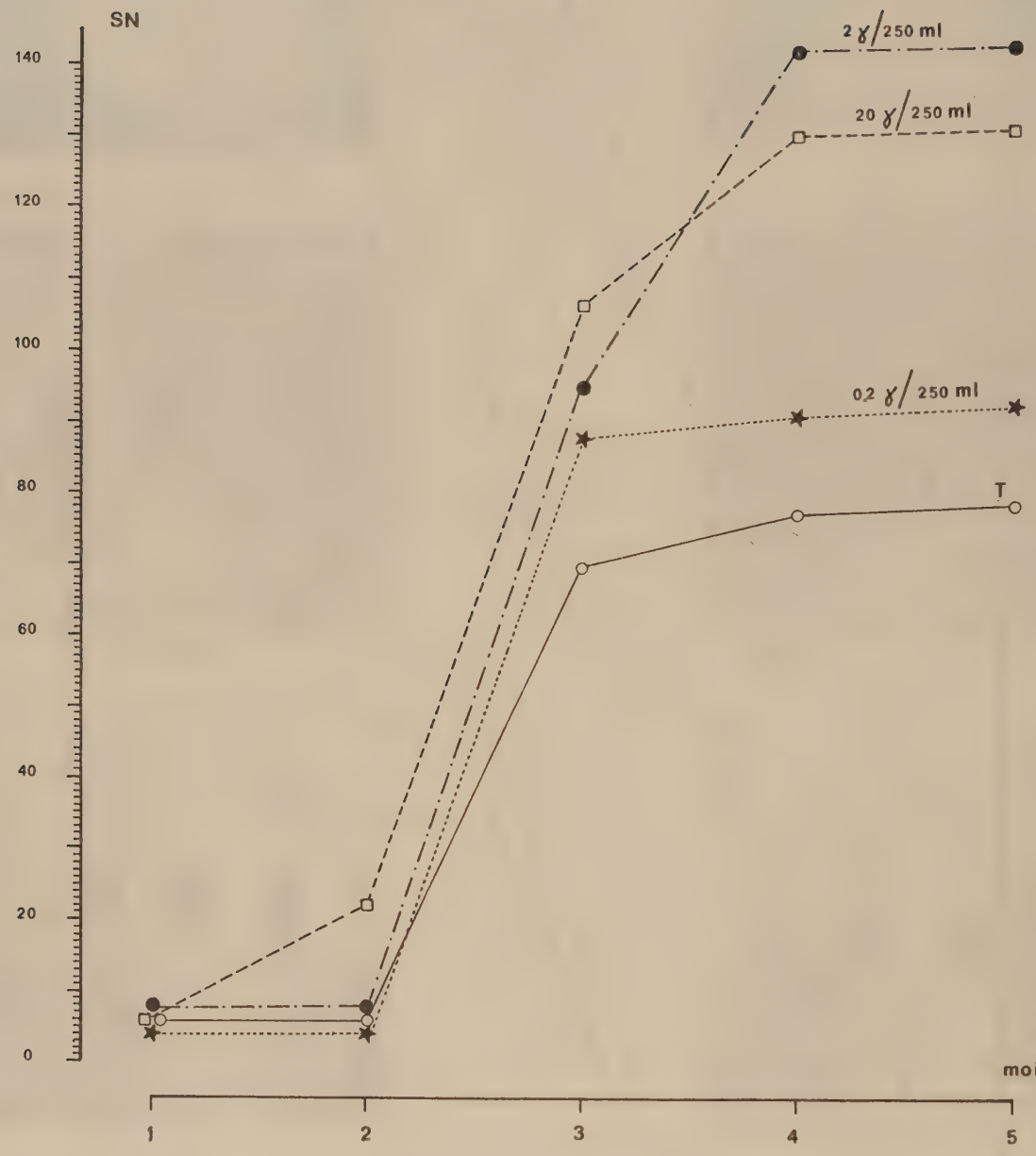


Figure 62 : Influence, in vitro, de GA_3 sur le nombre de néoformations (protubérances indifférenciées + néoformations de frondes et de "stolons") apparues, en 5 mois de culture, sur les thalles entiers de Petroglossum nicaeense. (Même légende que pour la figure 61).

Figure 63 : Influence, in vitro, de l'AIA sur la néoformation et la croissance de frondes apparues sur le thalle entier de Petroglossum nicaeense. (En blanc : nombre total de néoformations de frondes apparues sur les 10 individus de chaque lot (Nb), en pointillés : somme des longueurs, en millimètres, de toutes les néoformations de frondes apparues sur les 10 individus de chaque lot (SF). T = témoin. Conditions de culture : voir la figure 61).

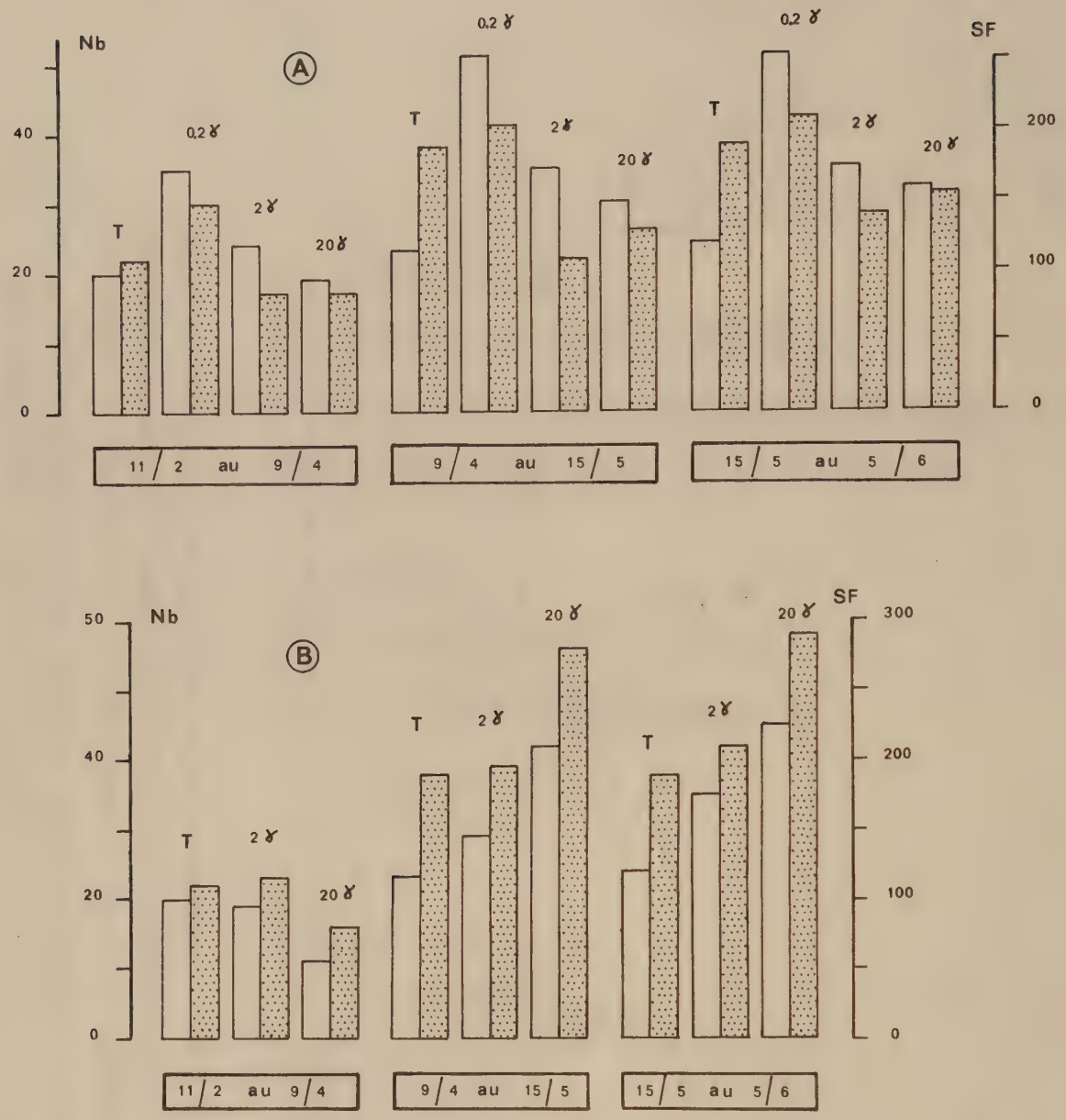


Figure 64 : Influence, in vitro, de GA_3 (A) et de la K (B) sur la néoformation et la croissance des frondes apparues sur le thalle entier de Petroglossum nicaeense. (Même légende que pour la figure 63).

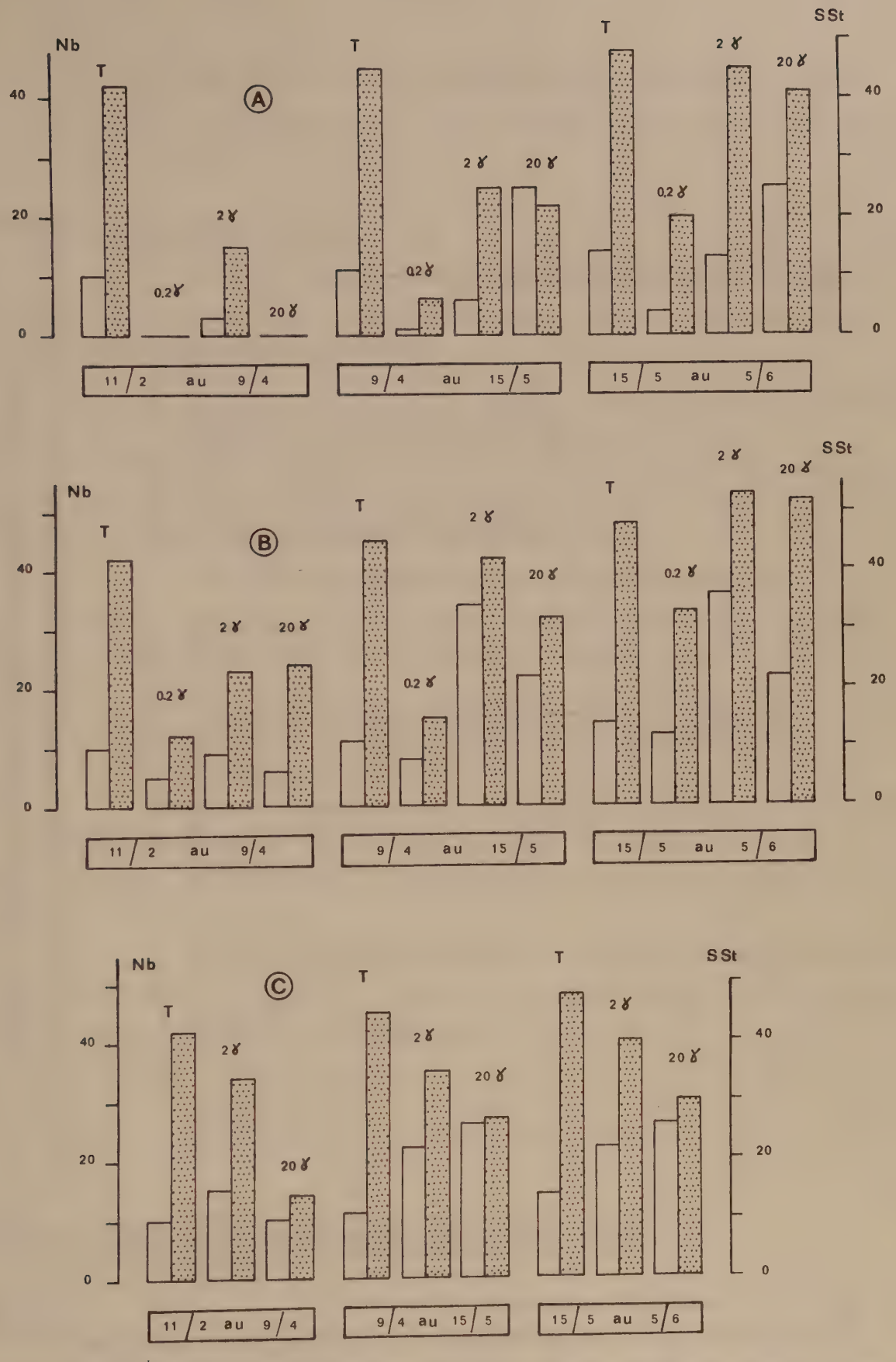


Figure 65 : Influence, in vitro, de l'AIA (A), de GA_3 (B) et de la K (C) sur la néoformation et la croissance des "stolons" apparues sur le thalle entier de Petroglossum nicaeense. (Même légende que pour la figure 62. En blanc (Nb) : nombre total de néoformations de "stolons" apparues sur les 10 individus de chaque lot, en pointillés (SSt) : somme des longueurs, en millimètres, de toutes les néoformations de "stolons" apparues sur les 10 individus de chaque lot).

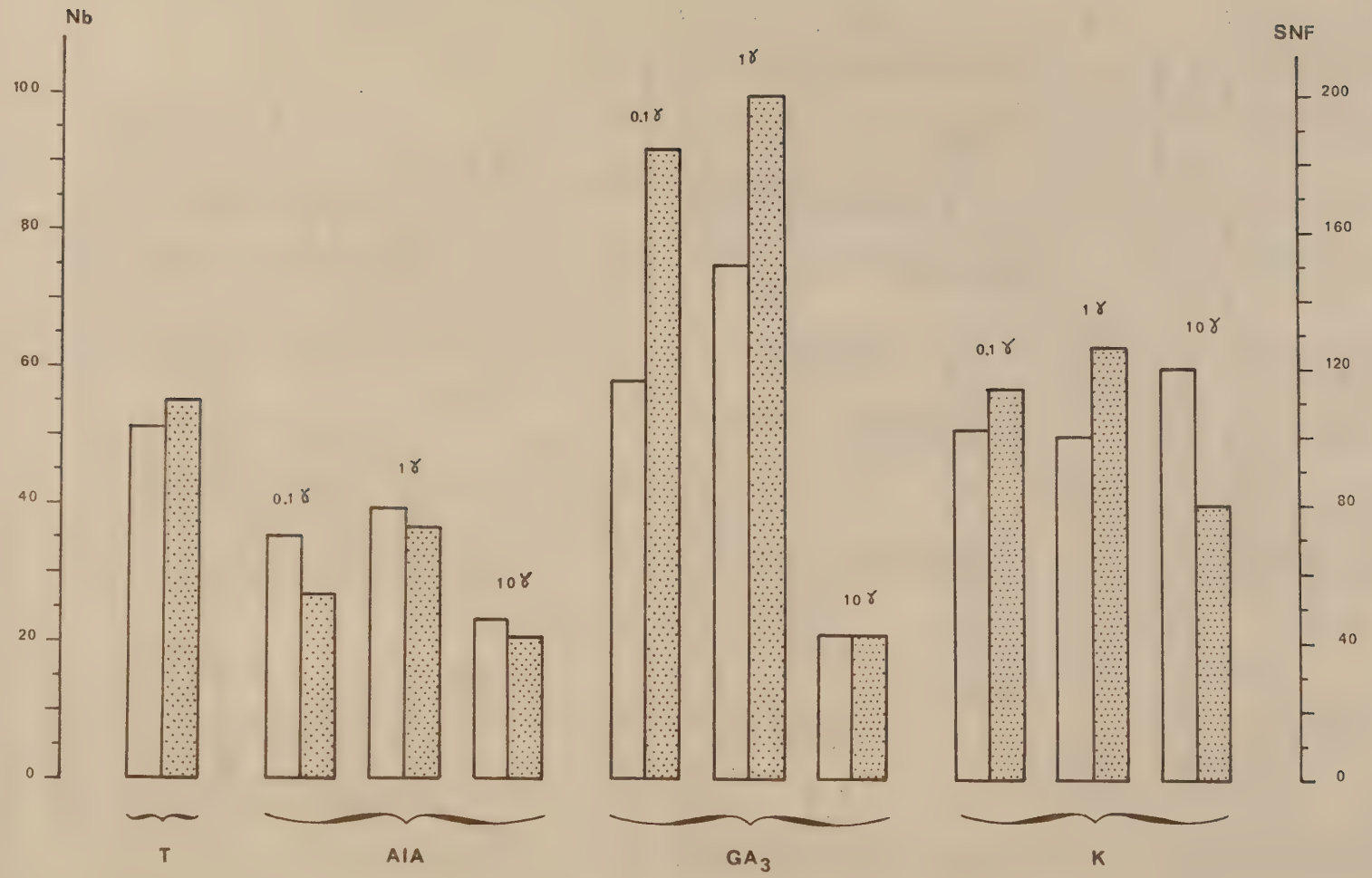


Figure 66 : Influence, in vitro, des substances de croissance sur l'apparition et la croissance des néoformations filamenteuses sur des fragments de tissu découpés dans la fronde de Petroglossum nicaeense. (Même légende que pour les figures 63 et 65. En blanc (Nb) : nombre total de néoformations filamenteuses apparues sur les 10 fragments de thalle pendant 2 mois, en pointillés (SNF) : somme des longueurs, en millimètres, de toutes les néoformations filamenteuses apparues sur les 10 fragments de thalle).

rement positive à la concentration de 10 microgrammes/100 ml de milieu de culture et enfin que GA_3 est particulièrement efficace, notamment au taux de 1 microgramme/ 100 ml de milieu de culture.

3°) Dilophus fasciola variété repens

Cette Phéophycée a été récoltée au Cap Croisette dans la banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône) dans l'infralittoral supérieur photophile de mode semi-battu.

Chez cette espèce nous avons pu observer, en culture, la formation d'aplanospores : une cellule corticale, semblable aux autres à l'origine, se multiplie pour donner un massif pluricellulaire qui en se développant produit directement une plantule (fig. 68). Cette forme spéciale de multiplication végétative est d'ailleurs assez fréquente chez les Dictyotales.

Les algues ont été cultivées pendant deux mois dans le microphycotron. Chaque bac de culture contenait 100 ml d'eau de mer additionnés de 1 ml d'extrait de terre. Pendant cette période l'allongement des frondes n'a pas excédé 1/10ème de leur longueur dans le cas le plus favorable (milieu nutritif contenant 1 microgramme d'AIA ou de K), par contre de nombreuses aplanospores sont apparues, quelques unes également dans des bacs témoins. Les conditions de culture semblent donc être davantage favorables à la multiplication végétative qu'à la croissance. Il convient néanmoins de signaler que l'automne est également l'époque où l'on trouve le plus d'aplanospores sur les Dilophus fasciola variété repens, en milieu naturel.

La figure 67 indique le nombre d'aplanospores apparues au bout de deux mois de culture en laboratoire. Cette formation d'aplanospores est stimulée particulièrement par GA_3 au taux de 1 microgramme/100 ml de milieu nutritif. L'AIA et la K accélèrent également le phénomène mais de façon beaucoup plus réduite et avec une efficacité maximale à la concentration de 0,1 microgramme/100 ml de milieu nutritif pour l'AIA et de 1 microgramme/100 ml de milieu nutritif pour la K.

IV. - TENEUR EN AZOTE TOTAL, EN PROTEINES ET EN ACIDES AMINES[1]

L'étude de l'influence des substances de croissance sur le taux d'azote total, des protéines et d'acides aminés a été réalisée sur la Rhodophycée Petroglossum nicaeense. L'algue a été récoltée à proximité du Cap

---

(1) Cette étude a été réalisée en collaboration avec M. PELLEGRINI et a déjà fait l'objet de deux publications : AUGIER et PELLEGRINI 1972 a et b.

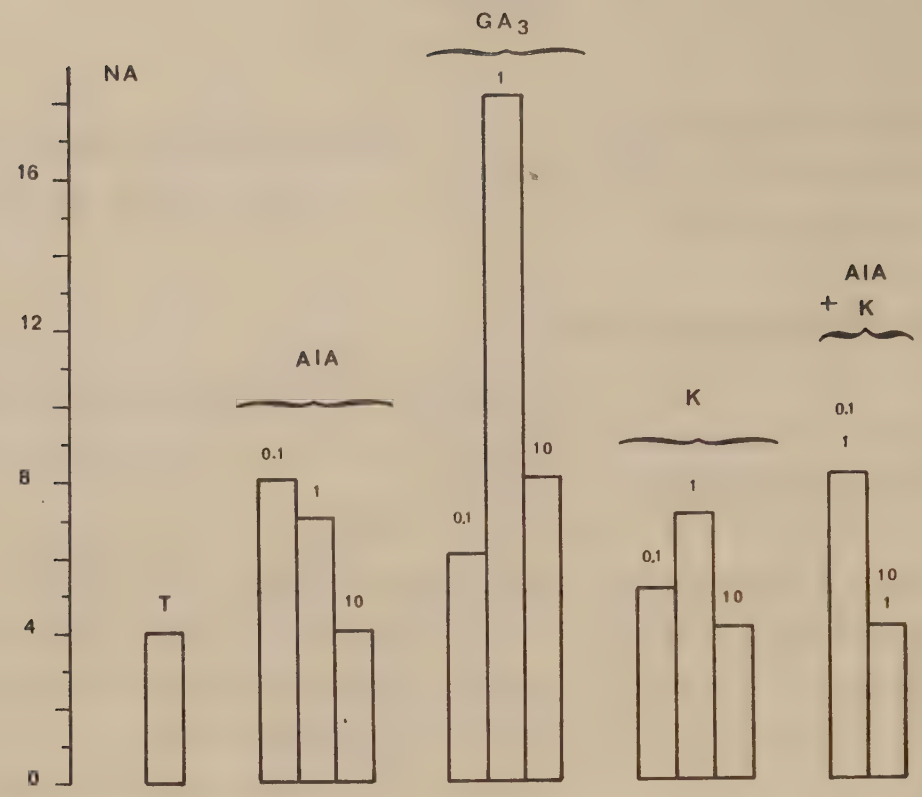


Figure 67 : Influence, in vitro, des substances de croissance sur l'apparition d'aplanospores chez Dilophus fasciola variété repens. (NA = nombre moyen d'aplanospores par individu. Les concentrations sont données en microgrammes/100 ml de milieu de culture. Conditions de culture : 19°C, courbe d'éclairement de 6 h de jour avec un maximum de 800 lux, 1 ml d'extrait de terre/100 ml d'eau de mer).

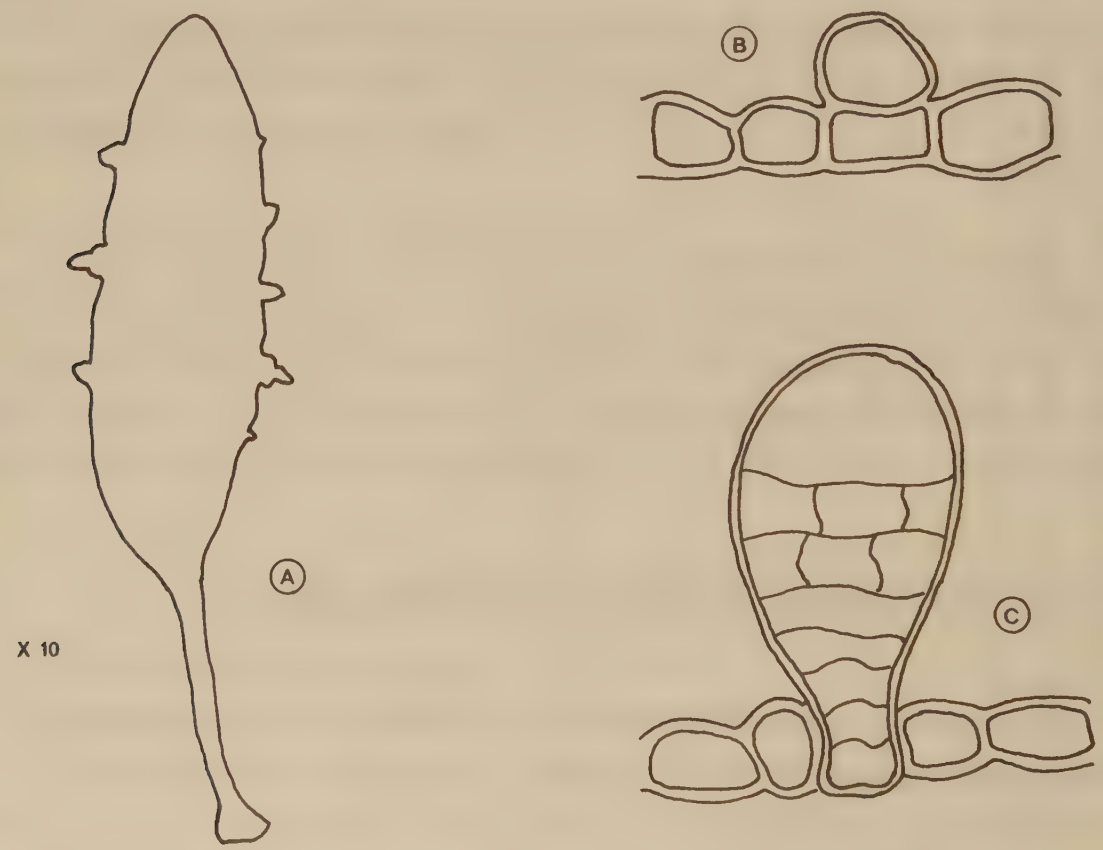


Figure 68 : Dilophus fasciola variété repens, plantules aposporiques (a) en voie de formation sur la fronde (A) et vues au microscope (B et C).

Croisette, dans la banlieue de Marseille (Bouches-du-Rhône), au sein d'un biotope sciaphile superficiel de mode battu caractéristique (AUGIER et al. 1968). Un premier prélèvement effectué le 4 juin 1971, a été partagé en 6 lots (TM1 = témoin marin immédiatement analysé ; TC = témoin analysé en fin de culture ; IV, V, VI et VII = lots respectivement cultivés avec l'AIA, GA_3, la K et la K + adénine). Une récolte (TM2) a été réalisée le 4 juillet 1971 dans le biotope naturel au moment où les cultures ont été sacrifiées.

Les résultats obtenus sont consignés dans les tableaux 20 et 21. Le tableau 20 donne les taux d'azote total, de protéines et d'acides aminés par rapport au poids d'algue sèche. Dans le tableau 21 les résultats relatifs aux acides aminés sont exprimés en pourcentage sur base molaire.

1°) Variations des taux des acides aminés des lots témoins.

a) in situ (différences entre TM1 et TM2) :

Le tableau 20 montre une diminution des taux de 14 acides aminés importante pour l'alanine, l'acide glutamique, la sérine, la méthionine, la phénylalanine et l'ornithine, et une augmentation de ceux de 4 autres acides aminés importante pour la proline et l'arginine.

Le tableau 21 indique une diminution des pourcentages molaires de 12 acides aminés importante surtout pour l'alanine et une augmentation de ceux de 6 acides aminés importante surtout pour la proline et l'arginine.

b) in vitro (différences entre TM2 et TC) :

Le tableau 20 montre une diminution des taux de 16 acides aminés importante pour la méthionine, l'isoleucine, l'alanine, la leucine, l'acide glutamique, l'ornithine, la sérine, l'histidine, la tyrosine, l'acide aspartique, la lysine, la phénylalanine, l'arginine, la glycine et la valine, et une augmentation de ceux de 2 autres acides aminés la proline et la cystéine.

Le tableau 21 indique une diminution des pourcentages molaires de 10 acides aminés importante pour la méthionine, l'isoleucine, l'acide glutamique, la leucine et l'alanine, et une augmentation de ceux de 8 acides aminés importante pour la proline, la cystéine et la thréonine.

2°) Variations des taux des acides aminés des algues traitées par les substances de croissance.

a) Acide indolyl-3-acétique (différence entre les lots III et IV) :

Le tableau 20 montre une diminution des taux de 15

	I TM1	II TM2	III TC	IV AIA	V GA_3	VI K	VII K+A
NT	4.33	4.32	3.96	3.41	3.81	3.67	3.93
P	27.06	27.00	24.75	21.31	23.81	22.94	24.56
Alanine	1.49	1.25	1.07	1.02	1.09	1.00	1.50
Glycine	1.22	1.14	1.08	0.94	1.11	0.95	1.11
Isoleucine	1.25	1.19	0.83	0.78	0.91	0.85	0.94
Leucine	1.41	1.37	1.02	0.94	1.11	1.03	1.17
Valine	1.11	1.02	1.00	0.78	0.96	0.61	1.00
Acide glutamique	3.26	2.86	2.35	2.12	2.48	2.16	2.53
Acide aspartique	2.53	2.34	2.06	1.87	2.19	1.92	2.34
Thréonine	1.17	1.20	1.11	0.66	0.94	0.73	0.79
Sérine	1.03	0.92	0.79	0.66	0.88	0.74	0.82
Arginine	1.48	1.79	1.29	1.45	1.55	1.18	1.34
Lysine	1.23	1.22	1.00	1.05	1.25	1.00	1.00
Ornithine	1.08	0.98	0.82	0.76	1.11	0.76	0.76
Cystéine	0.96	0.92	0.97	0.87	0.90	0.89	0.92
Méthionine	0.52	0.47	0.33	0.30	0.37	0.37	0.41
Phénylalanine	1.06	0.96	0.90	0.78	0.92	0.88	0.89
Tyrosine	1.07	1.00	0.86	0.76	0.96	0.83	0.94
Histidine	0.42	0.44	0.34	0.36	0.48	0.35	0.37
Proline	1.08	1.45	1.19	0.88	1.00	0.90	1.27

Tableau 20 : Pourcentage d'azote total (NT), de protéines (P) et des acides aminés par rapport au poids d'algue sèche. (TM1 = lot témoin récolté en mer le même jour que les lots III à VII ; TM2 = lot témoin récolté en mer le jour de l'arrêt des cultures : TC = lot témoin cultivé en laboratoire dans les mêmes conditions que les lots IV à VII ; IV, V, VI et VII = lots respectivement cultivés avec l'AIA, la GA_3, la K et la K + adénine).

	I TM1	II TM2	III TC	IV AIA	V GA_3	VI K	VII K+A
Alanine	9.17	8.02	8.12	8.77	7.79	8.46	10.64
Glycine	8.90	8.72	9.74	9.54	9.41	9.54	9.41
Isoleucine	5.24	5.17	4.29	4.52	4.44	4.86	4.53
Leucine	5.88	5.98	5.22	5.46	5.40	5.91	5.66
Valine	5.22	4.97	5.72	5.10	5.23	3.93	5.40
Acide glutamique	12.16	11.12	10.74	10.99	10.76	11.06	10.90
Acide aspartique	10.41	10.09	10.44	10.72	10.53	10.85	11.14
Thréonine	5.41	5.77	6.31	4.25	5.07	4.65	4.21
Sérine	5.39	5.02	5.08	4.50	5.35	5.29	4.93
Arginine	4.68	5.89	4.99	6.36	5.68	5.12	4.85
Lysine	4.63	4.78	4.60	5.50	5.48	5.15	4.32
Ornithine	4.51	4.24	4.16	4.41	5.35	4.31	3.64
Cystéine	3.12	3.10	3.82	3.92	3.40	3.96	3.46
Méthionine	1.90	1.81	1.51	1.54	1.60	1.86	1.73
Phénylalanine	3.51	3.34	3.65	3.59	3.55	4.02	3.41
Tyrosine	3.24	3.16	3.18	3.21	3.40	3.46	3.28
Histidine	1.49	1.60	1.48	1.78	1.98	1.69	1.49
Proline	5.14	7.22	6.95	5.84	5.58	5.88	7.00

Tableau 21 : Pourcentage des acides aminés exprimés sur base molaire. (Même légende que pour le tableau 20).

acides aminés importante pour la thréonine, la proline, la valine, la sérine, la phénylalanine, la glycine, la tyrosine et l'acide glutamique, et une augmentation de ceux de 3 autres acides aminés importante pour l'arginine.

Le tableau 21 indique une diminution des pourcentages molaires de 6 acides aminés importante pour la thréonine, la proline, la sérine et la valine, et une augmentation de celui de 12 autres importante surtout pour l'arginine, l'histidine et la lysine.

b) Acide gibbérellique (différences entre les lots III et V) :

Le tableau 20 montre une diminution des taux de 4 acides aminés importante pour la proline et la thréonine, et une augmentation de ceux de 14 autres importante pour l'histidine, l'ornithine, la lysine, l'arginine, la méthionine, la tyrosine, la sérine et l'isoleucine.

Le tableau 21 indique une diminution des pourcentages molaires de 7 acides aminés importante pour la thréonine, la cystéine et la proline, et une augmentation de ceux de 11 autres importante pour l'histidine, l'ornithine, la lysine et l'arginine.

c) Kinétine (différences entre les lots III et VI) :

Le tableau 20 montre une diminution des taux de 13 acides aminés importante pour la valine, la thréonine, la proline et la glycine, et une augmentation de ceux de 5 autres importante pour la méthionine.

Le tableau 21 indique une diminution des pourcentages molaires de 4 acides aminés importante pour la valine, la thréonine et la proline, et une augmentation de ceux de 14 autres importante pour la méthionine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine et la phénylalanine.

d) Kinétine + adénine (différences entre les lots III et VII) :

Le tableau 20 montre une diminution des taux de 4 acides aminés importante pour la thréonine, et une augmentation de ceux de 14 autres importante pour l'alanine, la méthionine, la leucine, l'asparagine et l'isoleucine.

Le tableau 21 indique une diminution et une augmentation des pourcentages molaires de 9 acides aminés (diminution importante pour la thréonine et l'ornithine, augmentation importante pour l'alanine et la méthionine).

QUATRIEME PARTIE

DISCUSSION . BILAN DES CONNAISSANCES ACTUELLES

CHAPITRE 1 : LES HORMONES DES ALGUES

I. - AUXINES ET PRECURSEURS AUXINIQUES

L'analyse d'extraits d'algues entières ou de portions isolées du thalle, à des moments différents de leur développement et sur des espèces appartenant à des groupes systématiques et écologiques distincts, a permis de révéler, chez ces Thallophytes, l'existence d'auxines de nature indolique. Ces résultats confirment ceux obtenus par d'autres auteurs qui sont parvenus aux mêmes conclusions à l'aide de techniques d'analyses en général différentes.

1°) Sur la présence de l'acide indolyl-3-acétique chez les algues

Les expériences ont permis de mettre en évidence la présence de l'AIA chez les Chlorophycées (Enteromorpha compressa), les Phéophycées (Cystoseira stricta, Dilophus spiralis, Padina pavonia, Petalonia fascia) et les Rhodophycées (Botryocladia botryoïdes, Lithothamniun calcareum, Pterocladia capillacea). On peut ajouter à cette liste des espèces (Dictyopteris membranacea, Laurencia obtusa, Rissoella verruculosa, Scytosiphon lomentaria) chez lesquelles il y a de fortes chances pour que l'auxine principale soit également l'AIA. Ces résultats sont étayés par ceux d'autres chercheurs qui ont trouvé de l'AIA chez les Characées (Chara foetida et C. hispida (JAHNKE et LIBBERT 1964), la Chlorophycée Cladophora sericea, la Phéophycée Pylaiella littoralis, la Rhodophycée Furcellaria fastigiata (SCHIEWER 1965 et 1967 a), la Chlorophycée unicellulaire Chlorella sp. (TAUTS et al. 1971). En tenant compte des conclusions de divers auteurs, on peut également supposer que l'AIA existe chez la Chlorophycée Ulva lactuca (THIMANN et al. 1942), le phytoplancton marin (à dominance de Diatomées), la Chlorophycée Chlorella pyrenoidosa, la Cyanophycée Oscillatoria sp., la Chrysophycée Ochromonas malhamensis, les Phéophycées Laminaria cloustonii, L. digitata et Ascophyllum nodosum (MOWAT 1963 et 1964), la Phéophycée Fucus vesiculosus (CONRAD et al. 1968), les Chlorophycées Enteromorpha compressa, E. prolifera, les Rhodophycées Ceramium rubrum et Nemalion multifidum (SCHIEWER 1965 et 1967 a).

Le bilan actuel s'établit donc à une trentaine d'espèces chez lesquelles sept chercheurs ou groupes de chercheurs différents ont identifié l'AIA avec plus ou moins de certitude et à l'aide de techniques d'analyses parfois fort différentes. L'AIA, l'une des hormones les plus répandues chez les végétaux supérieurs où elle préside aux phénomènes fondamentaux de la croissance

et du développement, est donc également présente chez les représentants des différents groupes d'algues.

Mais l'AIA révélé par les analyses est-il réellement l'AIA naturel contenu tel quel dans les algues vivantes ? Les sources d'erreur possibles sont de deux ordres. En premier lieu, l'AIA pourrait provenir de conversions bactériennes ou enzymatiques de précurseurs auxiniques au cours des différentes phases de l'extraction. Cette éventualité est exclue, au départ, par le procédé de lyophilisation et ensuite par l'absence totale d'eau aux différentes étapes de l'extraction. Dans la méthode d'épuration par congélation-décongélation, utilisée de façon exceptionnelle sur les extraits trop chargés en pigments, la température particulièrement basse exclut également la possibilité d'une telle conversion. Un phénomène de cet ordre requiert d'ailleurs un temps considérable (THIMANN et al. 1942). On pourrait aussi se demander si l'AIA proviendrait de bactéries marines se trouvant sur l'algue avant sa lyophilisation. Cette source d'erreur ne peut pas être entièrement exclue. On peut cependant faire à ce sujet un certain nombre de remarques. BENTLEY a établi, en 1960, l'existence d'auxines chez les algues cultivées stérilement. SCHIEWER a démontré, en 1967, que les algues stériles étaient encore capables de convertir le tryptophane en AIA. ZOBELL (1946) a établi que les algues en fin de végétation ou en décomposition présentent une forte concentration de bactéries, or, lors des analyses, on trouve moins d'auxines chez les algues âgées que chez les algues en pleine croissance. Il y a de fortes chances donc pour qu'une grande partie (sinon la totalité) de l'AIA décelé provienne bien du métabolisme propre des algues analysées.

2°) Cas du tryptophane

J'ai trouvé ce précurseur auxinique chez les Chlorophycées Cladophora loetevirens, C. utricularis et Codium fragile, chez les Phéophycées Dictyopteris membranacea, Dilophus spiralis et Halopteris scoparia, enfin chez les Rhodophycées Botryocladia botryoïdes et Lithothamiun calcareum. Il est vraisemblable que cette substance est également présente chez la Rhodophycée Rissoella verruculosa. MOSS (1965) a trouvé du tryptophane chez la Phéophycée Fucus vesiculosus.

Il convient de mentionner ici les expériences relatives à l'identification des acides aminés constitutifs des protéines. L'hydrolyse alcaline des protéines contenues dans les extraits (PELLEGRINI 1968) libère dans le cas de nombreuses algues du tryptophane qu'il est alors possible d'identifier par la méthode de LUNVEN (1963). Le tryptophane obtenu de cette façon est totale-

ment différent de celui que j'ai dosé ; dans le premier cas il est intimement lié aux autres acides aminés dans les protéines architecturales ; tandis que celui que j'ai mis en évidence est à l'état circulant et susceptible d'être transformé en auxine active par des processus de conversion enzymatique. La présence de tryptophane dans les protéines constitutives des algues n'implique pas nécessairement que ce composé, sous cette forme, puisse être libéré du complexe protidique pour donner naissance à la forme circulante. Néanmoins l'hypothèse est séduisante et il est par conséquent intéressant de faire état des travaux réalisés à ce sujet. COULSON (1953) a mis en évidence du tryptophane lié chez la Rhodophycée Rhodymenia palmata et les Phéophycées Ascophyllum nodosum et Pelvetia canaliculata de même que OISHI et al. (1969) chez Laminaria ochotensis. Les tableaux 22, 23 et 24 rassemblent les résultats obtenus par PELLEGRINI (1968, 1970, 1971 a et b, 1972 a, b, c et d). Les concentrations, exprimées en pourcentage du poids de poudre lyophilisée, s'échelonnent de 0,01 à 0,10 %. Un des résultats intéressants obtenus par cet auteur est la mise en évidence d'une variation du pourcentage de tryptophane en fonction de la croissance de l'algue considérée.

Le cas de Cystoseira stricta est assez significatif. Le développement de cette algue brune pérennante comprend trois phases successives. La première correspond à une période de reprise de végétation qui a lieu du mois d'août au mois de février et pendant laquelle la croissance est lente. La deuxième phase, pendant laquelle la croissance est très active correspond à l'allongement rapide des rameaux ; cette période s'étend du mois de février au mois de juin. Enfin une troisième phase correspond à la période de reproduction de l'algue qui se situe juste avant la chute des rameaux au mois de septembre ; à cette époque la croissance est faible. Or on constate que le taux de tryptophane est le plus élevé en janvier (0,10 %) et qu'il diminue progressivement par la suite jusqu'à la fin du mois de mai (0,07 %) ; le taux augmente alors légèrement aux mois de juin et de juillet (0,08 %) pour diminuer à nouveau progressivement jusqu'en septembre (0,03 %). Ainsi le taux de tryptophane lié est le plus élevé en janvier juste avant la période de croissance accélérée, il diminue ensuite progressivement à mesure que la croissance s'intensifie et se stabilise au moment de la période stationnaire. Il en est de même à l'époque de la reproduction mais avec des différences moins accusées. Ce phénomène a été constaté également chez d'autres espèces (Cystoseira fimbriata, C. balearica, C. crinita, C. barbata, C. discors) et il s'inscrit en faveur de l'hypothèse de l'utilisation du tryptophane lié au cours de la croissance. Cette hypothèse ne pourrait être vérifiée que par le marquage radioactif du tryptophane constitutif des protéines.

ESPECES	% poids algue sèche
Asparagopsis armata	0,02
Callithamnion granulatum	0,30
Falkenbergia rufolonosa	0,02
Laurencia obtusa	0,01
Laurencia papillosa	0,02 à 0,04
Laurencia pinnatifida	0,03
Laurencia undulata	0,02
Phyllophora heredia	0,03
Phyllophora nervosa	0,00
Pterocladia capillacea	0,22
Rissoella verruculosa	0,05

Tableau 22 : Teneur en tryptophane lié chez quelques Rhodophycées (d'après PELLEGRINI, modifié).

	ESPECES	% poids protéines
Chlorophycées	Enteromorpha intestinalis	0,72
	Enteromorpha linza	0,95
	Ulva lactuca	0,55
	Ulva rigida	0,55
Phéophycées	Cystoseira barbata	0,74
	Cystoseira fimbriata	0,74
	Cystoseira mediterranea	0,81
	Cystoseira stricta	0,85

Tableau 23 : Teneur en tryptophane lié chez quelques Chlorophycées et Phéophycées (d'après PELLEGRINI, modifié).

ESPECES	EPOQUE DE L'ANNEE											
	JAN	FEV	MARS	AVR	MAI	JUIN	JUIL	AOUT	SEP	OCT	NOV	DEC
Cystoseira balearica			0,10		0,07		0,06					0,06
Cystoseira barbata			0,07		0,08	0,06					0,05	
Cystoseira crinita		0,08			0,07			0,05				0,07
Cystoseira discors	0,07		0,06				0,05				0,07	
Cystoseira fimbriata	0,10	0,10	0,09	0,07	0,05	0,05	0,05	0,05	0,03	0,03		
Cystoseira stricta	0,10	0,09	0,08	0,07	0,07	0,08	0,08	0,06	0,03	0,06	0,07	0,08

Tableau 24 : Teneur en tryptophane lié à différentes périodes du développement de quelques Cystoseires méditerranéennes (d'après PELLEGRINI, modifié). (Les flèches indiquent, pour chaque espèce, la période de croissance intense).

3°) Auxines diverses

Avec l'AIA et le tryptophane, d'autres composés de nature indolique ont été trouvés dans les extraits d'algue ; certains d'entre eux sont considérés, avec le tryptophane, comme des précurseurs directs de l'AIA, du moins chez les végétaux supérieurs.

a) Indolylacétonitrile

J'ai trouvé cette substance chez Codium fragile, Halopteris scoparia et Padina pavonia. MOWAT a mis en évidence, en 1963, chez Ascophyllum nodosum et Laminaria cloustonii, une substance qui, d'après son Rf, pourrait être assimilée à l'IAN. Il en est de même de SCHIEWER (1965 et 1967 a) qui signale l'existence, chez Furcellaria fastigiata, d'une substance de même Rf que le nitrile de l'AIA.

b) Indolylacétate d'éthyle

Cette substance a été trouvée chez Codium fragile, Halopteris scoparia et Petalonia fascia. Elle pourrait être également présente chez Scytosiphon lomentaria mais des expériences complémentaires sont nécessaires pour en avoir confirmation.

c) Acide indolylglycollique

Ce composé a été trouvé par MOWAT (1963) chez l'algue brune Ascophyllum nodosum (tests de Salkowsky et d'Ehrlich positifs).

d) Substances dont la présence s'avère encore hypothétique

C'est le cas de la tryptamine chez Cladophora utricularis, de l'indolylaldéhyde chez Cystoseira stricta, de l'indolylacétamide chez Dictyopteris membranacea et Botryocladia botryoïdes. Les résultats obtenus à à ce sujet sont fragmentaires et insuffisants pour affirmer la présence de ces produits chez les algues considérées.

e) Autres substances indoliques non identifiées

- Une substance de même Rf que l'AIA mais donnant des teintes différentes avec les réactifs indoliques utilisés est décelable chez Cladophora loetevirens, C. utricularis, Codium fragile, Halopteris scoparia et Scinaïa furcellata. BENTLEY (1958) a également trouvé une substance présentant le même Rf que l'AIA chez Chlorella pyrenoidosa, Ochromonas malhamensis et Oscillatoria sp., de même que MOSS (1965) chez Fucus vesiculosus et SCHIEWER (1965 et 1967 a) chez Ceramium rubrum et Nemalion multifidum. Cette substance, qui pourrait d'ailleurs être de l'AIA, masqué ou lié à un autre produit, se révèle, sur les histogrammes, par des

pics d'activité aussi importants que ceux donnés par l'AIA lui-même.

- D'autres substances ont été mises en évidence par le test "mésocotyle" mais les teintes qu'elles donnent avec les réactifs biochimiques ne sont pas caractéristiques, à leur Rf, d'un composé indolique connu. Il convient de citer à ce sujet une substance chez Cladophora loetevirens, Scinaïa furcellata et Pterocladia capillacea et deux autres substances chez Cystoseira stricta. BENTLEY-MOWAT (1958, 1962 et 1963) en signale dans le phytoplancton marin, chez Oscillatoria sp., Chlorella pyrenoidosa et Ochromonas malhamensis, TANDLER (1962 a et b) chez les Chlorophycées Acetabularia calyculus, A. cliftonii, A. crenulata, A. mediterranea, A. wettsteinii, Acicularis schenekii, Batophora oerstedi, Cymopolia barbata et Dasycladus clavoeformis, MOSS (1965) chez Fucus vesiculosus, SCHIEWER (1965 et 1967 a) chez Cladophora sericea et Furcellaria fastigiata, TAUTS et al. (1971) chez Chlorella sp.

II. - SUBSTANCES DE TYPE GIBBERELLIQUE

Les analyses ont montré l'existence, chez les algues, d'un nombre relativement important de substances présentant des propriétés physiologiques semblables à celles des gibbérellines présentes chez les végétaux supérieurs. Ces "gibberellin like substances", révélées par des tests biologiques spécifiques des gibbérellines, sont caractérisées également par leur Rf en chromatographie et par leur comportement vis à vis du test biochimique de fluorescence.

1°) Substances présentant les mêmes caractéristiques que les gibbérellines de référence.

Ces produits sont caractérisés par le même Rf en chromatographie sur papier et (ou) sur couche mince, le même volume d'élution dans la perméation sur gel de dextranes, la même fluorescence avec le test biochimique et le même comportement avec les tests biologiques que les gibbérellines de référence.

Il s'agit essentiellement :

- de l'activateur A_3 de Caulerpa prolifera assimilable à GA_1 ;
- des activateurs A_4 de Codium fragile, A_2 d'Enteromorpha prolifera, A_3 de Cystoseira stricta, A_3 de Petalonia fascia, A_3 de Petroglossum nicaeense et A_3 de Porphyra leucosticta assimilables à GA_3 ;
- des activateurs A_5 de Caulerpa prolifera et A_4 de Porphyra leucosticta assimilables à GA_4 ;
- des activateurs A_4 de Caulerpa prolifera et A_5 de Codium fragile assimilables à GA_7 ;

- de l'activateur A_3 d'Enteromorpha prolifera assimilable à GA_9.

Il est également probable que GA_1 et GA_3 sont présents chez Fucus vesiculosus (RADLEY 1961), chez Fucus spiralis (MOWAT 1963 a et b, 1964 ; BENTLEY-MOWAT 1967), chez Enteromorpha prolifera (JENNINGS et al. 1968), chez Oedogonium cardiacum (BANERJEE et al. 1969) et que GA_3 existe chez Hypnea musciformis (JENNINGS et al. 1967). Il en est de même pour GA_4 chez Tetraselmis sp. (MOWAT 1963 a et b, 1964 ; BENTLEY-MOWAT 1967) et Ecklonia radiata (JENNINGS et al. 1968), pour GA_5 chez Oedogonium cardiacum (BANERJEE et al. 1969), GA_6 chez Fucus vesiculosus (RADLEY 1961), Fucus spiralis (MOWAT 1963 a et b, 1964 ; BENTLEY-MOWAT 1967), Hypnea musciformis (JENNINGS et al. 1967) et Oedogonium cardiacum (BANERJEE et al. 1969), GA_7 chez Tetraselmis sp. (MOWAT 1963 a et b, 1964 et BENTLEY-MOWAT 1967), Hypnea musciformis (JENNINGS et al. 1967) et Ecklonia radiata (JENNINGS et al. 1968), GA_9 chez Enteromorpha prolifera (JENNINGS et al. 1968).

2°) Substances ne présentant pas les mêmes caractéristiques que les gibbérellines de référence

Elles ont été trouvés soit dans la fraction acétate d'éthyle, soit dans la fraction butanol secondaire ; elles sont toutes actives sur les tests biologiques normalement spécifiques des gibbérellines.

a) Fraction acétate d'éthyle

1. - Substances fluorescentes sous la rampe à ultra-violets après action du réactif méthanol-acide sulfurique.

Ces substances sont localisées au Rf suivants :

- 0 à 0,1 :
  - fluorescence mauve : A_1 de Caulerpa prolifera, A_1 de Petroglossum nicaeense ;
  - fluorescence rouge et mauve orangé : A_1 de Porphyra leucosticta ;
  - fluorescence bleue : A_1 de Codium fragile ;
  - fluorescence jaune : A_1 de Cystoseira stricta et A_1 de Petalonia fascia ;
- 0,10 à 0,15 : fluorescence bleue : A_2 de Codium fragile ;
- 0,20 à 0,25 :
  - fluorescence mauve : A_2 de Caulerpa prolifera, A_1 d'Enteromorpha prolifera, A_2 de Porphyra leucosticta ;
  - fluorescence jaune : A_2 de Cystoseira stricta et A_2 de Petalonia fascia ;
- 0,35 : fluorescence blanc bleuté : A_3 de Petroglossum nicaeense ;
- 0,55 : fluorescence blanc bleuté : A_4 de Petroglossum nicaeense ;
- 0,75 à 0,80 : fluorescence mauve clair : A_4 de Petalonia fascia et A_5 de Petroglossum nicaeense ;

- 0,85 à 1 : fluorescence mauve rougeâtre : A_5 de Porphyra leucosticta.

2. - Substances non fluorescentes sous la rampe à ultra-violets après action du réactif méthanol-acide sulfurique.

Ces substances sont localisées aux Rf suivants :

- 0,15 : A_2 de Petroglossum nicaeense ;
- 0,90 - 1 : A_6 de Caulerpa prolifera, A_4 d'Enteromorpha prolifera et A_6 de Petroglossum nicaeense.

b) Fraction butanol secondaire

1. - Substances fluorescentes sous la rampe à ultra-violets après action du réactif méthanol-acide sulfurique.

Ces composés sont localisés aux Rf suivants :

- 0,20 à 0,30 :
  - fluorescence jaune : A_2 de Caulerpa prolifera, A_2 de Codium fragile, A_1 d'Enteromorpha prolifera, A_1 de Petroglossum nicaeense, A_2 de Porphyra leucosticta ;
  - fluorescence bleue : A_2 de Cystoseira stricta ;
- 0,35 à 0,45 :
  - fluorescence bleue : A_3 de Codium fragile, A_2 d'Enteromorpha prolifera, A_3 de Cystoseira stricta ;
  - fluorescence jaune : A_1 de Lithothamniun calcareum ;
- 0,60 à 0,65 :
  - fluorescence bleue : A_4 de Codium fragile ;
  - fluorescence mauve brunâtre : A_3 de Petroglossum nicaeense ;
- 0,85 :
  - fluorescence jaune vert : A_4 de Caulerpa prolifera ;
  - fluorescence jaune mauve : A_2 de Lithothamniun calcareum.

2. - Substances non fluorescentes sous la rampe à ultra-violets après action du réactif méthanol-acide sulfurique.

Ces composés sont localisés aux Rf suivants :

- 0,05 : A_1 de Cystoseira stricta ;
- 0,10 à 0,20 : A_1 de Caulerpa prolifera, A_1 de Codium fragile ;
- 0,40 à 0,45 : A_3 de Caulerpa prolifera, A_2 de Petroglossum nicaeense, A_2 de Porphyra leucosticta ;
- 0,80 à 1 : A_5 de Codium fragile, A_4 de Petroglossum nicaeense, A_3 de Porphyra leucosticta.

D'autres chercheurs ont également signalé, dans diverses fractions d'extraits d'algues, la présence de substances non déterminables par les procédés de caractérisation employés mais qui sont actives à l'égard des tests biologiques normalement spécifiques des substances de nature gibbérellique. Citons à ce sujet les travaux de RADLEY (1961) sur Fucus vesiculosus, MOWAT (1963 a et b, 1964) sur Tetraselmis sp. et Fucus spiralis, MURAKAMI (1965 et 1966) sur Porphyra tenera et Chara coronata, JENNINGS et al. (1967 et 1968) sur Enteromorpha prolifera, Ecklonia radiata et Hypnea musciformis, GUPTA et al. (1969) sur Phormidium faveolarum, BANERJEE et al. (1969) sur Oedogonium cardiacum. Il convient de souligner que les méthodes utilisées par les différents auteurs sont trop dissemblables pour qu'on puisse établir des rapprochements précis entre les diverses substances qu'ils ont décelées.

Sept chercheurs ou groupes de chercheurs(1) ont donc démontré, à l'aide de techniques d'analyse parfois très différentes, l'existence de substances de nature gibbérellique chez les algues. Il existe également de sérieuses présomptions concernant la présence de GA_3 chez au moins dix représentants des quatre grands groupes d'algues (Cyanophycées, Chlorophycées, Phéophycées et Rhodophycées) et l'on a mentionné l'existence des gibbérellines GA_1, GA_4, GA_5, GA_6, GA_7 et GA_9 chez au moins onze représentants de ces quatre grands groupes taxinomiques. Il est intéressant de souligner à ce sujet les résultats semblables aux miens obtenus par JENNINGS et al. (1968) avec des extraits d'Enteromorpha prolifera récoltée en Australie. Les techniques employées ne permettent pas d'établir des conclusions définitives concernant l'identité des produits décelés. Signalons à ce propos que le comportement chromatographique d'une gibbérelline considérée dans un extrait brut peut être différent de celui de la substance pure tout comme sa réaction au test biochimique et il n'est pas exclu également qu'il se produise des conversions de gibbérellines in vitro (Mc COMB 1962, JONES 1964).

Les tests biologiques, utilisés dans ce travail pour mettre en évidence l'existence de gibbérellines, ont également révélé la présence d'inhibiteurs de croissance dans les extraits d'algues. De nombreux auteurs ont aussi signalé dans le thalle des algues l'existence de ces substances appelées "antagonistes" des gibbérellines par certains d'entre eux (MOWAT 1963 a et b, 1964, MURAKAMI 1965 et 1966, JENNINGS 1967 et 1968, BANERJEE et al. 1969). Dans une étude plus particulièrement axée sur ces substances JENNINGS (1969) a montré leur rôle possible dans la régulation de la croissance de la Phéophycée Ecklonia radiata.

---

(1) Il m'a été malheureusement impossible de me procurer la publication de RAJU (1970) qui a analysé quelques algues marines du Sud de l'Inde en ce qui concerne leur teneur en gibbérellines.

Les inhibiteurs extraits d'Ecklonia inhibent non seulement la croissance de l'algue elle-même mais également celle des plantules de maïs nain traitées par l'acide gibbérellique. Cette expérience démontre la spécificité d'action de ces substances dont l'interaction avec les gibbérellines n'est cependant pas facile à expliquer. Les inhibiteurs peuvent réduire la quantité de gibbérellines produite par la plante (Cf. travaux de MOWAT 1963 a et b et 1964), par exemple en activant leur dégradation enzymatique (LOCKHART 1962), mais il est possible également qu'ils agissent directement sur les métabolismes empêchant n'importe quelle quantité de gibbérelline d'agir sur la croissance du thalle. Quoi qu'il en soit, il est clair que le développement doit résulter du jeu subtil de ces substances qui freinent ou accélèrent la croissance tissulaire. On n'a pour l'instant aucune idée de la nature chimique de ces inhibiteurs. JENNINGS (1969) établit, à ce sujet, un rapprochement physiologique avec l'acide abscissique qui affecte de façon semblable à celle de ces inhibiteurs la croissance des végétaux supérieurs tandis que RADLEY (1961) souligne l'analogie du comportement chromatographique de la substance inhibitrice extraite de Fucus vesiculosus avec l'inhibiteur β mis en évidence par LUCKWILL (1952) et KEFFORD (1955) chez les végétaux supérieurs.

III. - SUBSTANCES DE TYPE CYTOKININE

L'utilisation conjointe des techniques de perméation sur gel de dextranes, de précipitation par les ions argent, d'adsorption sur charbon actif suivie d'élution aux solvants et de chromatographie sur couche mince de cellulose permet de réaliser une purification particulièrement efficace des extraits contenant des cytokinines. Cette méthode qui a déjà conduit à l'identification des cytokinines de la racine d'Endive (BUI-DANG-HA 1970) est également satisfaisante pour l'étude des cytokinines des algues. Elle a en effet permis de mettre en évidence l'existence de substances de ce type chez trois algues marines. L'activité la plus importante est notée dans les fractions d'élution 460-1340 ml pour l'extrait d'Enteromorpha linza, 4520-5470 ml pour l'extrait de Cystoseira discors et 610-760 ml pour l'extrait de Gymnogongrus norvegicus. Ces fractions, particulièrement actives à l'égard du test moelle de tabac et soumises au réactif acétonique de bromophénol contenaient très probablement des substances à noyau purique ou pyrimidique. D'autres essais d'identification ont montré que ces substances ne pouvaient être assimilées ni à la zéatine ni à la 6-benzyladénine car elles présentent des comportements chromatographiques différents.

Si l'on prend en considération les travaux de BENTLEY-MOWAT 1967, BENTLEY et al. 1968, JENNINGS 1969 et HUSSAIN et al. 1969, on constate

que des substances de type cytokinine ont été trouvées chez les représentants des Phéophycophytes (Cystoseira discors, Ecklonia radiata et Laminaria digitata), des Rhodophycophytes (Gymnogongrus norvegicus et Hypnea musciformis), des Pyrrophycophytes (Gymnodinium splendens), des Chrysophycophytes (Phaeodactylum tricornutum et diverses Diatomées marines) et des Chlorophycophytes (Enteromorpha linza). Seuls les représentants de l'embranchement des Cyanophycophytes n'ont pas encore été considérés. Les résultats positifs obtenus sur ces huit espèces par des auteurs ou groupes d'auteurs distincts, utilisant des méthodes parfois très différentes, permettent donc d'affirmer, sans ambiguité possible, l'existence de cytokinines endogènes chez les algues.

Les cytokinines ont été également révélées chez les Bactéries (KLÄMBT et al. 1966, HELGESON et al. 1966), les Champignons (SASSA 1970, TARIS et al. 1970, TEGLEY et al. 1971 et BARTHE 1971) et les Hépatiques à thalle (SCHNEIDER et al. 1965). Il apparaît donc que ces substances de croissance, mises en évidence chez plus de 50 espèces de végétaux supérieurs (Cf. BUI-DANG-HA 1970), sont également présentes chez les végétaux d'organisation plus simple et en particulier chez les thallophytes.

IV. - AUTRES SUBSTANCES DE NATURE HORMONALE

Outre les auxines, les gibbérellines et les cytokinines, les algues renferment des substances endogènes dont les concentrations et les propriétés sont apparentées aux unes ou aux autres. Il s'agit de substances dont la nature chimique est encore inconnue mais qui ont une influence indéniable sur la croissance, la morphogenèse ou la reproduction des algues.

Une première série de produits, caractérisés par leur absence de réaction à l'égard des tests biochimiques d'identification des composés indoliques, a été révélée par le test "mésocotyle d'avoine". Il est possible de grouper ces produits d'après leur Rf en chromatographie sur papier :

- Rf 0 à 0,10 : A_1 chez Cladophora loetevirens, Cystoseira stricta, Petalonia fascia et Laurencia obtusa ;
- Rf 0,10 à 0,20 : A_1 chez Enteromorpha compressa, Padina pavonia et Pterocladia capillacea ;
- Rf 0,55 à 0,65 : A_3 chez Codium fragile, Halopteris scoparia, Scytosiphon lomentaria et A_4 chez Padina pavonia ;
- Rf 0,75 à 0,85 : A_5 chez Cladophora loetevirens, A_4 chez Petalonia fascia, A_3 chez Lithothamniun calcareum ;

- Rf 0,85 à 1 : A_3 chez Enteromorpha compressa, Dilophus spiralis, Botryocladia botryoïdes, Laurencia obtusa, Rissoella verruculosa, A_4 chez Lithothamniun calcareum et A_6 chez Cladophora loetevirens ;
- zone des substances neutres (dans la chromatographie à deux solvants) : A_4 chez Cladophora utriculosa, Botryocladia botryoïdes, Laurencia obtusa, Rissoella verruculosa, A_5 chez Scytosiphon lomentaria, A_6 chez Padina pavonia et A_7 chez Cladophora loetevirens.

Certaines de ces substances manifestent à l'égard du test biologique une activité aussi importante que celle de l'AIA et mériteraient de faire l'objet de travaux complémentaires. Un grand nombre d'entre elles pourront certainement être rattachées de la sorte aux auxines ou aux gibbérellines. Il est possible en effet, que dans mes expériences, leur concentration soit trop faible pour permettre leur identification par les tests biochimiques des composés indoliques et il ne faut pas en outre perdre de vue que le test "mésocotyle" peut également révéler l'existence de composés de nature gibbérellique. Ces expériences complémentaires pourraient néanmoins fournir l'occasion d'identifier des substances hormonales d'un type nouveau.

Une deuxième série de produits, caractérisés par leur absence de réaction avec le test biochimique des gibbérellines, a été mise en évidence par les tests biologiques "hypocotyle de laitue", "feuille embryonnaire d'avoine" et "maïs nain". De nouvelles recherches (mentionnées dans le chapitre consacré aux gibbérellines) permettraient vraisemblablement de compléter la liste actuelle des gibbérellines endogènes des algues.

Des substances de nature inconnue ont été signalées également par plusieurs auteurs dans les extraits de Chlorella (YIN 1937, ROBORTH 1948, VRANA et al. 1964), de Codium decorticatum (WILLIAMS 1952), d'Hormotila blennista (MONAHAN et al. 1970 et 1971), de Valonia (VAN DER WEIJ 1933), de Fucus vesiculosus (DU BUY et al. 1937, MOSS 1965), de Laminaria agarghii (WILLIAMS 1949), de Macrocystis pyrifera (VAN OVERBEEK 1940 a). VAN OVERBEEK (1940 b) en signale également chez une Diatomée, deux Rhodophycées et 11 Phéophycées à la suite d'épreuves réalisées avec le test de courbure du coléoptile d'avoine de WENT.

Les travaux d'autres auteurs, basés essentiellement sur des méthodes de culture, ont permis de mettre en évidence des substances de natures diverses pour lesquelles aucun essai d'extraction ou d'identification n'a été tenté.

Des activateurs de la croissance des algues ont été signalés de la sorte par PRATT et al. (1940) et PRATT (1942) chez Chlorella vulgaris,

par SUNESON (1942 et 1943) chez Cladophora glaucescens, Ulva lactuca, Ascophyllum nodosum, Chorda phyllum, Fucus serratus et F. vesiculosus, Ceramium rubrum et Cystoclonium purpurascens, par LEFEVRE at al. (1949) chez Scenedesmus quadricauda, Pandorina morum et Phormidium uncinatum, par JORGENSEN et al. 1961 chez Chlorella vulgaris et C. pyrenoidosa, Scenedesmus quadricauda, Anaboena cylindrica et Nitzchia palea, par MOHSEN (1966) chez Cosmarium, par BERGLUND (1969) chez Enteromorpha linza, par MANAHAM et al. (1970) chez Scenedesmus et enfin par FRIES (1970) chez un grand nombre d'algues.

Des activateurs de croissance ont été décelés par LEONIAN (1935) dans les filtrats et les extraits de Chlorella viscosa, Coccomyxa simplex, Oocystis naegeli et Scenedesmus flavescens, par LEFEVRE et al. (1963) chez les Cyanophycées d'eau douce (substances qui favorisent la multiplication cellulaire des tissus de topinambour et les fibroblastes embryonnaires de poulet), par DAGYS et al. (1964) chez Fucus vesiculosus et Furcellaria fastigiata, par GUPTA et al. (1969) et KUSHWAHA et al. (1970) chez Phormidium et par TAUBAEV et al. (1970) chez Chlorella vulgaris.

Certains chercheurs ont supposé l'existence de substances morphogenétiques chez les algues : DOSTAL (1945) chez Caulerpa (il les nomme "organogènes"), LAZAROFF et al. (1961) chez Nostoc muscorum, KOCHERT et al. (1970) chez Volvox carteri, BRACHET (1968 et 1970), FARBER (1969), CHIRKOVA et al. (1970), ZETSCHE et al. (1970), PUISEUX et al. (1970), BONOTTO et al. (1971) chez Acetabularia. Il convient de mentionner également à ce sujet les travaux de MONER (1954) qui a mis en évidence des substances qui stimulent la formation des colonies de Pediastrum duplex.

Il faut également faire état des travaux ayant trait aux hormones sexuelles. La première démonstration de la sécrétion de substances sexuelles par les gamètes des algues a été faite par JOLLOS (1926) chez la Chlorophycée Dasycladus. GEITLER (1931) a montré que les gamètes des deux sexes secrètent des hormones sexuelles chez l'algue verte Tetraspora lubrica. Les expériences les plus complètes sur ce thème d'étude sont celles de MOEWUS (1933-1940). On trouvera une synthèse des recherches réalisées sur ce sujet dans les publications générales de SMITH (1951) et de WILBOIS (1962) auxquelles il convient d'ajouter les travaux de COOK et al. (1951) sur Fucus serratus et F. vesiculosus, de MACHLIS (1953) sur Oedogonium cardiacum et O. geniculatum (la substance attire le sperme), de TSUBO (1961) sur Chlamydomonas moewusii et de DARDEN (1968 et 1971) sur Volvox aureus (substances actives sur les souches mâles). Enfin MULLER (1967 et 1968) et MULLER et al. (1971) ont isolé et identifié pour la première fois une gamone d'algue produite par Ectocarpus siliculosus : l'ectocarpus sirènine.

V. - DISTRIBUTION ET REPARTITION DES HORMONES

Compte tenu de l'ensemble des observations recueillies, on s'aperçoit que les auxines ont été trouvées chez les représentants des Cyanophycophytes, des Rhodophycophytes, des Chrysophycophytes, des Phéophycophytes mais n'ont pas encore été mises en évidence chez les Pyrrophycophytes. Les gibbérellines ont été décelées chez les représentants des Cyanophycophytes, des Rhodophycophytes, des Chrysophycophytes, des Phéophycophytes et des Chlorophycophytes ; elles n'ont pas encore été recherchées chez les Pyrrophycophytes. Les cytokinines enfin ont été mises en évidence chez les représentants des Rhodophycophytes, des Pyrrophycophytes, des Chrysophycophytes, des Phéophycophytes et des Chlorophycophytes ; elles n'ont pas encore fait l'objet de recherches chez les Cyanophycophytes.

Les hormones végétales paraissent donc uniformément répandues chez les algues.

Les analyses ont révélé également que des phytohormones de types différents peuvent coexister chez une même espèce ; c'est la cas des auxines et des gibbérellines chez Cystoseira stricta et Lithothamniun calcareum (voir p. 111, 132, 145 et 147), des gibbérellines et des cytokinines chez Hypnea musciformis (JENNINGS 1967 et 1969).

Ces recherches ont également mis en évidence les modalités de la répartition des phytohormones en fonction de la période de croissance et des différentes parties du thalle examiné.

Les expériences sur Enteromorpha compressa et Padina pavonia ont clairement démontré que les algues jeunes (donc en pleine croissance) contiennent plus d'hormones que les algues âgées. Ces résultats concordent avec ceux d'autres auteurs. C'est ainsi que VAN DER WEIJ (1933) n'a réussi à mettre en évidence l'existence de substances de croissance chez Valonia utricularis que dans les extraits de jeunes individus ; la méthode employée, peu sensible il est vrai, ne donnait des résultats négatifs avec les Valonia plus âgées. SCHIEWER (1965 et 1967 a) a montré également que des algues en pleine croissance (Enteromorpha compressa, Cladophora sericea) contiennent plus d'AIA que des algues adultes. JAHNKE et LIBBERT (1964) ont constaté, de leur côté, l'existence, chez Chara foetida et Chara hispida, de variations saisonnières de la distribution des auxines. A la belle saison les algues contiennent de l'AIA actif, en hiver l'auxine est absente et l'extrait contient, à sa place, un autre composé indolique acide, à Rf différent, biologiquement inactif. Cette différence est accentuée par le fait qu'en hiver la fraction non acide est riche en inhibiteurs de croissance.

Contrairement à ce qui se passe chez les animaux, l'élaboration des hormones, chez les végétaux supérieurs, ne semble pas se faire dans des organes bien individualisés. Certaines zones de l'organisme sont cependant plus actives. Par exemple, dans le cas des céréales, le taux d'auxines le plus élevé s'observe à la pointe du coléoptile ; il décroît dans la zone du méristème et diminue encore progressivement jusqu'à la base du coléoptile (THIMANN 1934). Si le coléoptile est décapité, la croissance cesse et la teneur en auxines s'abaisse. Les cellules voisines de la coupure acquièrent toutefois, au bout de quelques heures, la propriété de fabriquer des auxines et la croissance reprend faiblement (vitesse réduite d'un quart). Ainsi il existe chez les végétaux supérieurs, des zones de tissus plus actives que d'autres dans l'élaboration des auxines (bourgeons, jeunes tiges des plantes ligneuses, jeunes feuilles, pointes radiculaires, etc...) qui établissent un gradient de concentration par le jeu de la circulation auxinique et de la transformation enzymatique. Je me suis demandé s'il existait un phénomène semblable chez les algues.

Les expériences réalisées avec Cystoseira stricta ont montré que la zone apicale est plus riche en auxines que le reste du thalle et que la teneur en inhibiteurs de croissance est plus faible au niveau de l'apex. MOSS (1965) a constaté, de son côté, que l'apex de Fucus vesiculosus présente une concentration en hormone plus importante que le reste de la fronde en démontrant que l'effet inhibiteur de l'apex sur la régénération de nouvelles "branches" (dûe à l'auxine) est considérablement affaibli par l'application d'antiauxines (acide naphtoxyacétique et acide 2.3.5-triodobenzoïque). VAN OVERBEEK (1940 a) a même montré qu'il existe un gradient de concentration croissant depuis la base jusqu'à la partie apicale chez l'algue brune Macrocystis pyrifera : lames terminales (0,54 microgramme d'équivalent d'AIA / Kg d'algue fraîche) lames latérales (0,16) vésicules (0,15) stipes (0,14). Chez la Laminariale Nereocystis (algue annuelle atteignant parfois 20 mètres de longueur), les lames ont également une concentration auxinique plus élevée que le stipe, la concentration la plus forte a été trouvée dans la partie médiane de la fronde, à proximité de la zone méristématique (FRITSCH 1965). WILLIAMS (1949) aboutit à la même conclusion par une méthode différente avec Laminaria agardhii : il existe non seulement un gradient de concentrations le long de la fronde de cette algue, mais le méristème qui assure la croissance est nettement plus riche en auxines que le reste du thalle.

D'autres expériences ont permis de révéler des localisations particulières. C'est ainsi que VAN OVERBEEK (1940 b) a constaté chez une Rhodophycée du genre Rhodymenia que les frondes pourvues de tétraspores sont

plus riches en substances de croissance (0,23 microgramme/Kg d'algue fraîche) que celles en état végétatif (0,02 microgramme/Kg). Cette différence liée à la reproduction a également été constatée chez Fucus vesiculosus par CONRAD et CONRAD (1968) : les réceptacles mâles contiennent dix fois plus d'auxines que les réceptacles femelles (50 microgrammes/Kg d'algue fraîche pour 5 microgrammes/Kg en équivalents d'AIA et la concentration à l'extrémité du thalle est seulement de 1,6 microgramme/Kg). La localisation des cristaux indoliques signalés par TANDLER (1962 a et b) chez la Chlorophycée unicellulaire Acetabularia mediterranea est assez curieuse : ils s'observent dans la partie postérieure de la "tige" et dans le "rhizoïde". Le fragment de thalle séparé de la base nucléée avant la formation du "chapeau" est capable de produire le dérivé indolique cristallisé comme en témoigne sa présence dans les chapeaux nouvellement formés et principalement dans leurs couronnes (HAMMERLING 1959). VAN DER WEIJ a démontré, en 1933, que la paroi des frondes en forme de vésicules des Chlorophycées Valonia utricularis et Valonia macrophysa contient vingt fois plus de substances de croissance que le mucilage interne. Je suis arrivé, à une conclusion semblable avec Botryocladia botryoïdes. L'AIA se trouve à une concentration plus élevée dans les parois des vésicules que dans les autres parties du thalle. Cette importante concentration de l'auxine dans la paroi des vésicules suggère que l'AIA pourrait y être soit synthétisé, soit stocké. A ce sujet, rappelons la structure des vésicules décrite par FELDMANN (1945). La paroi est constituée par quatre à six couches de cellules. La partie externe est formée de petites cellules assimilatrices polygonales prolongées par une à deux assises de cellules un peu plus grandes ; la partie interne est constituée par une à trois rangées de grandes cellules vésiculeuses dont la taille croît de l'extérieur vers l'intérieur. Sur la face interne de la paroi on observe de petites cellules sécrétrices qui auraient pour rôle de sécréter le mucilage qui remplit la cavité de la vésicule. Dès lors, différentes hypothèses peuvent être envisagées :

- les cellules vésiculeuses de la paroi ont-elles un rôle de stockage des substances de croissance ?
- les cellules sécrétrices participent-elles à l'élaboration de l'auxine ?
- les parois des vésicules ont-elles le pouvoir de protéger l'auxine de la destruction enzymatique naturelle ?
- ou bien n'y a-t-il aucun rapport entre les cellules des vésicules et le taux élevé d'auxines ?

De nouvelles expériences permettront peut être d'apporter une solution à ce problème.

VI. - HORMONES LIEES

Divers travaux (Cf. PILET 1961) ont montré, chez les végétaux supérieurs, à côté des auxines "libres", c'est-à-dire circulantes (comme l'AIA, l'IAN, etc...), l'existence d'auxines "liées", c'est-à-dire de complexes endogènes susceptibles de libérer des auxines actives. La méthode de l'hydrolyse alcaline (VAN OVERBEEK 1940) a permis à plusieurs chercheurs de démontrer l'existence d'auxines liées chez les algues (THIMANN et al. 1942, MOWAT 1964, SCHIEWER 1965 et 1967 a, TAUTS et al. 1971). Je l'ai constaté également chez Botryocladia botryoïdes et chez Enteromorpha compressa. Il convient de signaler, par contre, que TANDLER (1962 a et b) n'a pas trouvé d'AIA dans les hydrolysats d'Acetabularia et que JAHNKE et LIBBERT (1964) n'ont trouvé aucune substance biologiquement active après hydrolyse alcaline chez les Characées. Je suis arrivé à la même conclusion avec Porphyra leucosticta. Un grand nombre d'auteurs (TANDLER 1962 a et b, MOWAT 1964, HILGENBER 1965, SCHIEWER 1965 et 1967 a) considèrent que que les auxines libérées par hydrolyse alcaline ne proviennent pas de la transformation directe du tryptophane mais d'un "complexe" dans lequel l'auxine serait intimement liée. On ne sait pas encore si on peut attribuer à ces auxines "liées" une grande importance comme précurseurs de l'AIA. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour tenter de résoudre le problème général de la conversion des auxines liées en auxines actives.

MAC COMB a démontré, en 1961, qu'à côté des gibbérellines classiques dites "libres", les plantes peuvent également contenir des gibérellines "liées" plus particulièrement localisées dans les graines, les fruits, les tubercules, les bulbes et les extrêmités des racines. Contrairement aux autres gibbérellines, ces substances ne peuvent pas être extraites de la phase aqueuse acide avec l'acétate d'éthyle mais peuvent l'être avec le butanol primaire et le butanol secondaire. Plusieurs de ces substances ont pu être récemment identifiées. Il s'agit de glucosides des gibbérellines GA_3 (TAMURA et al. 1968), GA_8 (SCHREIBER et al. 1966, HARADA et al. 1970), GA_{26} (YOKOTA et al. 1969 a), GA_{27} (YOKOTA et al. 1969 a et b), GA_{29} (YOKOTA et al. 1969 b et 1970) et GA_{35} (YAMANE et al. 1971). Le rôle de ces substances est encore obscur. Chez les algues, des substances de cette nature ont été mises en évidence, à l'aide des tests biologiques spécifiques des gibbérellines, dans les fractions "butanol secondaire" de la plupart des extraits analysés (fig. 34 à 42) ; il est possible de les distinguer d'après leur Rf et leur réaction au test de fluorescence aux ultra-violets sous l'action du réactif méthanol-acide sulfurique :

- Rf 0,05 à 0,20, aucune fluorescence nette : A_1 de Caulerpa prolifera, A_1 de

Codium fragile et A_1 de Cystoseira stricta ;

- Rf 0,15 à 0,30, fluorescence jaunâtre : A_2 de Caulerpa prolifera, A_2 de Codium fragile, A_1 d'Enteromorpha compressa, A_1 de Lithothamniun calcareum, A_1 de Petroglossum nicaeense et A_1 de Porphyra leucosticta ;
- Rf 0,25 à 0,40, fluorescence bleue : A_2 d'Enteromorpha compressa et A_2 de Cystoseira stricta ;
- Rf 0,40 à 0,50 :
  - aucune fluorescence nette : A_3 de Caulerpa prolifera, A_2 de Petroglossum nicaeense et A_2 de Porphyra leucosticta ;
  - fluorescence bleue : A_3 de Codium fragile, A_3 de Cystoseira stricta ;
- Rf 0,55 à 0,70, fluorescence bleue : A_4 de Codium fragile et A_3 de Petroglossum nicaeense ;
- Rf 0,80 à 1 :
  - aucune fluorescence nette : A_5 de Codium fragile, A_4 de Petroglossum nicaeense et A_3 de Porphyra leucosticta ;
  - fluorescence jaunâtre : A_4 de Caulerpa prolifera et A_2 de Lithothamniun calcareum.

VII. - BIOGENESE DES HORMONES

On ignore encore tout de la biogenèse des gibbérellines et des cytokinines chez les algues, par contre pour les auxines il est possible actuellement d'en esquisser les principales lignes directrices.

N'ayant pas travaillé moi-même directement sur cette question, je me bornerai à citer les travaux de SCHIEWER (1965 et 1967 b), SCHIEWER et al. (1965 et 1967), AHMAD et al. (1969 et 1970) qui m'ont permis de dresser le schéma des différentes voies de biosynthèse de l'acide indolyl-3-acétique chez les algues (figure 69). La comparaison de ce schéma avec celui des végétaux supérieurs (figure 70) conduit aux remarques suivantes :

- les précurseurs de base sont identiques : auxines "liées", tryptophane, indole ;
- certaines voies sont communes : celles passant par les "plaques tournantes" que sont la tryptamine et l'IAN ;
- par contre, la voie passant par l'indolylacétaldéhyde, considérée comme voie principale chez les végétaux supérieurs, n'a pas encore été révélée chez les algues, ce qui ne signifie pas nécessairement qu'elle n'existe pas.

De nouvelles recherches, à l'aide de produits marqués au C^{14} en particulier, sont donc nécessaires pour établir avec plus de certitude des comparaisons dans ce domaine.

Figure 69 : Schéma général des différentes voies de biosynthèse de l'acide indolyl-3-acétique chez les algues.

—— voies démontrées ---- voies hypothétiques

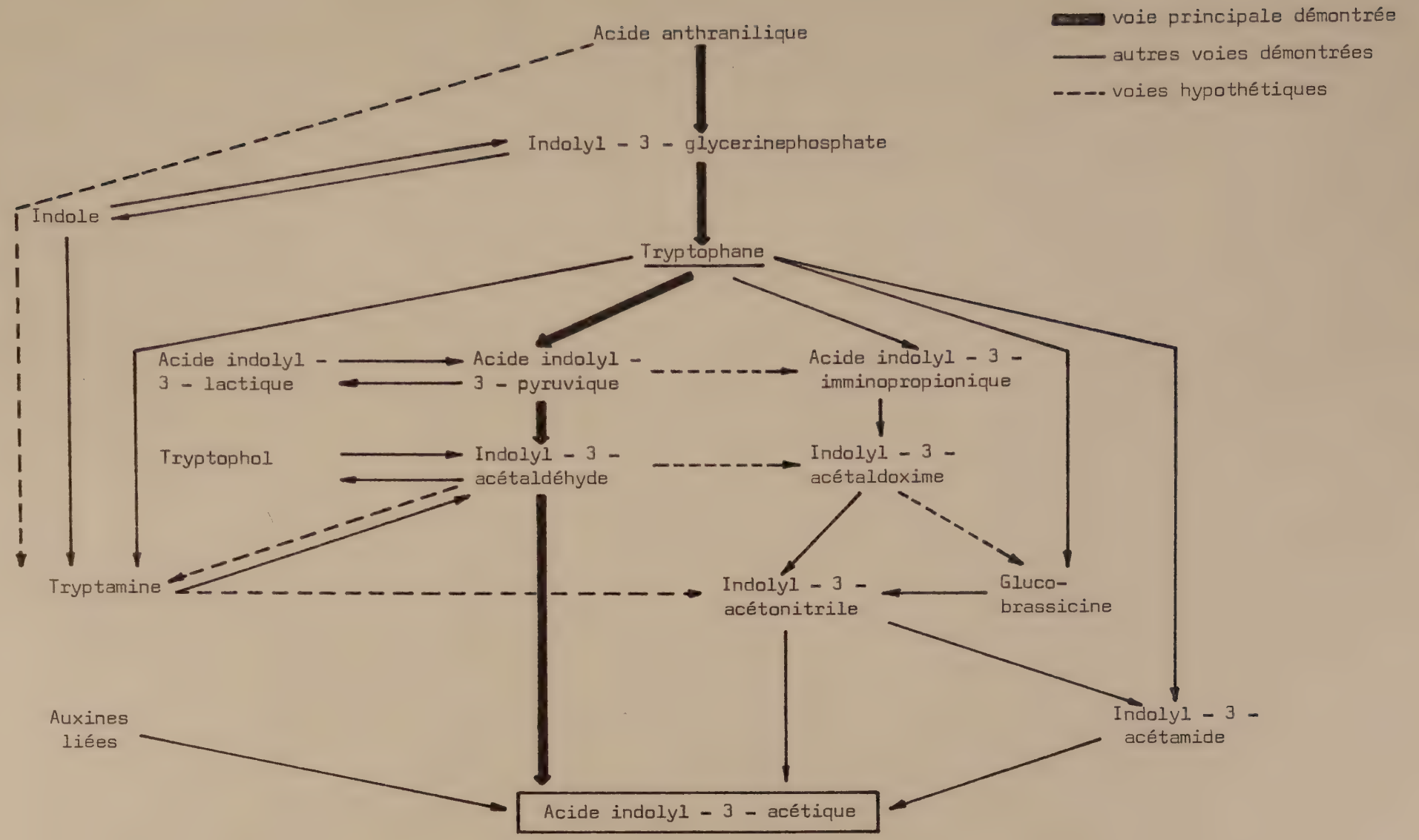


Figure 70 : Schéma général des différentes voies de biosynthèse de l'acide indolyl-3-acétique chez les végétaux supérieurs (d'après LIBBERT et al. 1970, modifié).

CHAPITRE 2 : ROLE DES PHYTOHORMONES DANS LA VIE DES ALGUES

La présence d'auxines , de gibbérellines et de cytokinines dans les extraits d'algues n'implique pas , à priori , que ces substances exercent chez ces végétaux des actions semblables à celles constatées chez les Spermaphytes . Seules des expériences consistant à faire agir des phytohormones sur les algues en milieu naturel ou en culture sont susceptibles de permettre de préciser la nature de leur action sur ces thallophytes .

I.- ACTION SUR LE DEVELOPPEMENT ET LA CROISSANCE

1°) Croissance

a) Auxines

L'étude de l'influence de l'AIA sur la croissance des algues a fait l'objet d'un nombre relativement important de travaux (tableaux 25 , 26 , 27 , 28 , 29 et 30) que l'on peut résumer de la manière suivante :

- 23 chercheurs ou groupes de chercheurs ont constaté l'influence favorable de l'AIA appliqué à des concentrations convenables sur 12 Cyanophycophytes , 36 Chlorophycophytes , 5 Chryso. et Pyrrophycophytes , 7 Phéophycophytes et 4 Rhodophycophytes; 9 chercheurs ou groupes de chercheurs ont au contraire signalé une influence nulle ou inhibitrice sur 16 Chlorophycophytes , 1 Chrysophycophyte et 1 Pyrrophycophyte;
- parmi les 64 espèces qui réagissent favorablement à l'application d'AIA , I4 sont unicellulaires , 2 coloniales et 48 pluricellulaires ; sur les 18 espèces qui ne sont pas influencées par l'application d'AIA ou dont la croissance est inhibée par cette auxine , 16 sont unicellulaires et 2 pluricellulaires ;
- l'AIA exerce une action favorable sur toutes les espèces de Cyanophycophytes , Phéophycophytes et Rhodophycophytes à condition d'être appliqué à doses convenables ; les Chlorophycophytes qui présentent une réaction négative à l'application d'auxine sont en majorité unicellulaires à l'exception de Caulerpa ollivieri et Mesotaenium caldariorum .

Le tableau 30 fait état des travaux relatifs à l'influence des substances de croissance sur l'élongation et la division cellulaires . En ce qui concerne l'AIA , cet acide exerce une influence favorable:

- sur l'élongation cellulaire de 2 Chlorophycophytes unicellulaires ;
- sur la division cellulaire de I9 Chlorophycophytes (dont 12 unicellulaires , 2

coloniales et 5 pluricellulaires) , d'1 Chrysophycophyte et d'1 Pyrrophycophyte unicellulaires ;

- à la fois sur la division et l'élongation cellulaire de 4 Cyanophycophytes pluricellulaires et 3 Chlorophycophytes (dont 2 unicellulaires) .

Des composés indoliques autres que l'AIA ont été essayés sue les algues (Tableau 31) :

- l'acide 5-hydroxy-indolyl-3-acétique sur la croissance de 5 Chlorophycophytes ;
- l'acide indolyl-3-butyrique sur la croissance de 2 Chlorophycophytes et d'1 Phéophycophyte , sur la division cellulaire de 3 Chlorophycophytes et d'1 Chrysophycophyte , sur l'élongation et la division cellulaires d'1 Chlorophycophyte ;
- l'acide indolyl-3-pyruvique sur la division cellulaire d'1 Chlorophycophyte , sur l'élongation cellulaire d'1 autre Chlorophycophyte et sur l'élongation et la division cellulaires d'1 troisième Chlorophycophyte ;
- l'acide indolyl-3-propionique sur la croissance d'1 Chlorophycophyte et sur la division cellulaire de 4 autres Chlorophycophytes ;
- l'indole sur la croissance de 3 Cyanophycophytes ;
- l'indolylacétonitrile et le méthyl-indolylacétate sur la croissance d'1 Chlorophycophyte ;
- la tryptamine sur la croissance de 5 Cyanophycophytes ;
- le tryptophane sur la croissance de 5 Cyanophycophytes , d'1 Chlorophycophyte et d'1 Phéophycophyte ;
- le tryptophol sur la croissance de 2 Cyanophycophytes et d'1 Chlorophycophyte ;
- le 2.5-hydroxytryptamine sur la croissance de 4 Cyanophycophytes .

Pour renforcer l'ensemble de ces résultats , il convient de souligner que parmi les espèces qui réagissent positivement à l'application d'AIA ou de composés indoliques voisins , certaines ont fait l'objet d'analyses biochimiques qui ont révélé l'existence d'auxines endogènes dans leur thalle ; il s'agit de :

- 3 Cyanophycophytes : Anaboena cylindrica , Anacystis nidulans et Chlorogloea fritschii ;
- 11 Chlorophycophytes : Acetabularia mediterranea , Batophora oerstedi , Chara foetida , Chlorella sp. , C. pyrenoidosa , C. vulgaris , Codium decorticatum , C. fragile , Enteromorpha compressa , E. intestinalis et Ulva lactuca ;
- 2 Chrysophycophytes : Ochromonas mahamensis et Melosira sp. ;
- 6 Phéophycophytes : Ascophyllum nodosum , Cystoseira stricta , Dictyopteris membranacea , Fucus evanescens , F. vesiculosus et Halopteris scoparia ;
- 1 Rhodophycophyte : Pterocladia capillacea .

ESPECES	AIA	GA_3	K	AUTEURS
Anaboena circinalis	+	+		DAVIS 1964
" cylindrica	+/-			AHMAD et al. 1968 a
" planktonika	+	+		DAVIS 1964
" variabilis	+/-	+/-	+/-	KIM 1961 et 1962
				FERNANDEZ et al. 1968
Anacystis nidulans	+			AHMAD et al. 1968 a
Aphanizomenon flos-aquae	+	+		DAVIS 1964
Chlorogloea fritschii	+/-			AHMAD et al. 1968 a
Microcystis aeruginosa C		+		ALBERT et al. 1959
Nostoc sp.	+			BUNT 1961
" muscorum	+			AHMAD et al. 1968 a, 1971
" punctiforme	+	+	+	FERNANDEZ et al. 1968
Phormidium faveolarum	+			AHMAD et al. 1968 a
Tolypothrix tenuis	+/-			" " "

Tableau 25 : Influence des substances de croissance sur la croissance des Cyanophycophytes. (+ = favorable, - = défavorable, +/- = favorable/défavorable selon la concentration ou les conditions de l'expérience, o = aucun effet, C = algues coloniales).

ESPECES	AIA	GA_3	K	AUTEURS
* Ascophyllum nodosum	+			DAVIDSON 1950
. Dictyopteris membranacea	+	+		AUGIER 1972 (Thèse)
. Dictyota dichotoma	+			NASR et al. 1969
. Dilophus fasciola	+		+	AUGIER 1972 (Thèse)
. Ecklonia radiata		+		JENNINGS 1968 et 69
. Ectocarpus fasciculatus			+	PEDERSEN 1968
. " "			+	FRIES 1971
* Fucus evanescens	+			DAVIDSON 1950
* Fucus vesiculosus	+/-			MOSS 1965
* Halopteris scoparia	+/o	+/o	+/-	AUGIER 1972 (Thèse)
. Laminaria japonica		+		GUO 1959
. Lithosiphon pusillus			o	PEDERSEN 1968
. Pylaiella litoralis			+	" "

Tableau 26 : Influence des substances de croissance sur la croissance des Phéophycophytes. (Même légende que pour le tableau 25. . = expériences réalisées sur des algues entières, * = expériences réalisées sur des fragments de thalle).

ESPECES	AIA	GA_3	K	AUTEURS
∘ Acetabularia crenulata U			+	SPENCER 1968
∘ " mediterranea U	+			DAO 1954 et 1959
* " "	+			THIMANN et al. 1959
∘ " "			+	DE VITRY 1962
. Ankistrodesmus falcatus E	+			AHMAD et al. 1968 a
* Batophora oerstedi	+/-			PUISEUX DAO 1957
∘ Bryopsis muscosa	+	+	o	AUGIER 1972 (Thèse)
∘ Caulerpa ollivieri	o/-			DOSTAL 1945
* " prolifera	+	+	+	AUGIER 1972 (Thèse)
. Chlamydomonas moewusii U		+		BURDETT et al. 1960
. Chlorella sp. U	o/-	o	o	TAMIYA et al. 1960
. " "	o/-	o/-	o/-	FERNANDEZ et al. 1968
. " "	+			TAUTS 1971
. " de Sorokin U		+		COHEN et al. 1963
. " ellipsoidea U	o/+			BACH et al. 1961
. " fusca U	o/-	o		LIEN et al. 1971
. " miniata U	o/-			LEONIAN et al. 1937
. " pyrenoidosa U	o/-			" " "
. " "	+/-			BRANNON 1937 et 1945
. " "	+/o			BACH et al. 1958
. " "	+/-	+/o	+/-	KIM 1961 et 1962
. " "		+		SAONO 1964
. " "		+		BENDANA 1967
. " "		+		OUSHEVA et al. 1968
. " "	+			AHMAD et al. 1968 a
. " vulgaris U	+/-			PRATT 1938
. " "	o			LILLY et al. 1941
. " "	o/-			ALGEUS 1946
. " "	+			ROBORGH et al. 1948
∘ " "		o		CIFERRI et al. 1957
. " "	o/+			BACH et al. 1958
. " "		+		COHEN et al. 1963
. " "		+		SAONO 1964
. " "	o/-	o/-	-	FERNANDEZ et al. 1968
. " "	+	+	+	PALAMARCHUK et al. 1969
∘ Chlorococcum sp. U	o/-	o/-	-	FERNANDEZ et al. 1968
. Coccomyxa dispar C		+		PETERFI et al. 1963
. " simplex C	o/+			BACH et al. 1958
* Codium dichotomum	+			WILLIAM 1952
* " dicorticatum	+			" "
. " fragile	+			AUGIER 1972 (Thèse)
. Coelastrum microporum C		+		GATES et al. 1966
. Cystococcus cohaerens U	o/-			LEONIAN et al. 1937
. Dunaliella salina U		o/-		MASJUK 1961
* Enteromorpha clathrata	+			MULLER-STOLL 1952
* " compressa	+			" " "
. " "	+	+	o	AUGIER 1972 (Thèse)
. Mesotaenium caldariorum	o			BRANNON et al. 1939
. Nannochloris oculata U		+	+/-	BENTLEY-MOWAT 1967
. Nitella sp.		+		TAMATOSHI et al. 1959
* " flexilis	+	+/-		SANDAN et al. 1957 et 58

. Oedogonium cardiacum	+/o	+/o	+/o	KIM 1961 et 1962
. Oocystis sp. U	+			BRANNON 1937
. " naegelii U	o/-			LEONIAN et al. 1937
. Protococcus viridis U	o	o/-	-	FERNANDEZ et al. 1968
. Prototheca portoricensis		o		CIFERRI et al. 1957
. Rhizoclonium hieroglyphicum	+			DAVIDSON 1952
. Scenedesmus flavescens U	o/-			LEONIAN et al. 1937
. " obliquus U	o/+			BACH et al. 1958
. " "	+			AHMAD et al. 1968 a
. " "	o/-	+	+	FERNANDEZ et al. 1968
. " quadrispina U		+		PETERFI et al. 1963
. Stigeoclonium variabile		+		" " "
. Ulothrix subtillisima	+	+		CONRAD et al. 1959, 61 et 62
. Ulva lactuca	+			LEVRING 1945
* " "	+/-			MULLER-STOLL 1952
* " "	+	+	+	PROVASOLI 1957 et 1958
. " "	+			NASR et al. 1969
* " rigida	+/-	+	+	AUGIER 1972 (Thèse)
* " "	+			KALE et al. 1969

Tableau 27 : Influence des substances de croissance sur la croissance des Chlorophycophytes. (Même légende que pour les tableaux 25 et 26. U = algues unicellulaires).

Il en est de même chez des espèces différentes mais appartenant au même genre chez les :

- Cyanophycophytes : Anaboena (A. circinalis, A. planktonika, A. variabilis) ;
- Chlorophycophytes : Acetabularia (A. calyculus, A. cliftonii, A. crenulata, A. wettsteinii), Chara (C. hispida, C. fusca, C. miniata), Codium (C. dichotomum, C. tomentosum), Enteromorpha (E. sp., E. clathrata, E. linza), Scenedesmus (S. sp., S. acuminatus, S. acutiformis, S. bijuga, S. dimorphus, S. flavescens, S. obliquus, S. quadricauda), Ulva (U. rigida, U. lactuca) ;
- Pyrro. et Chrysophycophytes : Choetoceros (C. sp., C. affinis, C. convolutus, C. debilis, C. decipiens) ;
- Phéophycophytes : Cystoseira (C. barbata, C. stricta), Dilophus (D. fasciola, D. spiralis), Fucus (F. evanescens, F. serratus, F. vesiculosus), Laminaria (L. sp., L. agardhii, L. cloustonii, L. digitata, L. japonica).

L'ensemble des résultats examinés permettent donc d'affirmer non seulement que des auxines de nature indolique - l'AIA en particulier - sont présentes dans le thalle des algues mais encore qu'elles y exercent un rôle de première importance sur la croissance. En prenant en considération les résultats obtenus au sujet de la biogenèse de l'AIA, il est possible d'ajouter que les mécanismes biochimiques qui président à la régulation des phénomènes de croissance des algues empruntent des voies analogues, sinon identiques à celles des végétaux supérieurs

ESPECES	AIA	GA_3	K	AUTEURS
Euglena gracilis U	+/o			BACH et al. 1958
" " U	o	o/-	o/-	FERNANDEZ et al. 1968
Halosphoera sp. U		+?		JOHNSTON 1963
Peridinium sp. U		o		" "
Vaucheria sessilis	+	+		KIM 1961 et 1962
Choetoceros sp. U	o			LEVRING 1945
Ditylum brightwelli U		-		JOHNSTON 1963
Melosira sp. U	+			LEVRING 1945
" granulata U		-		ERMOLAEVA et al. 1964
Navicula sp. U		-		JOHNSTON 1963
Nitzchia closterium U		+		" "
" delicatissima U		+		" "
Phaeodactylum tricornutum U		+		BENTLEY et al. 1967
Skeletonema sp. U	+			LEVRING 1945
" costatum U	+			BENTLEY 1958 et 60
Thalassiosira gravida U		-		JOHNSTON 1963

Tableau 28 : Influence des substances de croissance sur la croissance des Pyrrophycophytes et des Chrysophycophytes. (Même légende que pour les tableaux 25 et 27. De Choetoceros à Thalassiosira = Bacillariophycées).

ESPECES	AIA	GA_3	K	AUTEURS
* Gracilaria verucosa		+/-		JENNINGS 1971
* Hypnea musciformis		-		" "
* Petroglossum nicaeense	+/-	+/-	+/-	AUGIER 1972 (Thèse)
* Porphyra leucosticta		+/o		" " "
* " tenera		+		KINOSHITA et al. 1958
. " "	+/-	+	+/-	IWASAKI 1965
. " "		+		FRIES 1971
* Pterocladia capillacea	+			FELICINI et al. 1967
. " "	+			NASR et al. 1969

Tableau 29 : Influence des substances de croissance sur la croissance des Rhodophycophytes. (Même légende que pour les tableaux 25 et 26).

Cette conclusion est renforcée par le fait que , comme chez les Spermaphytes , non seulement les auxines deviennent inhibitrices à des concentrations élevées mais également que des substances inhibitrices interviennent aussi sur les corrélations de croissance en contrebalançant l'action des facteurs favorables . Il convient enfin de mettre en relief que les auxines agissent aussi bien sur la division que sur l'élongation cellulaires et dans certains cas sur les deux phénomènes à la fois ce qui est conforme aux expériences réalisées avec les végétaux supérieurs .

b) Gibbérellines

L'étude de l'influence des gibbérellines sur la croissance des algues a surtout été faite avec GA_3 (Tableaux 25,26,27,28,29 et 30) :

- 29 chercheurs ou groupes de chercheurs ont contaté l'influence favorable de GA_3 sur 6 Cyanophycophytes , 24 Chlorophycophytes , 5 Chryso. et Pyrrophycophytes , 4 Phéophycophytes et 6 Rhodophycophytes et l'influence défavorable ou nulle sur 8 Chlorophycophytes , 6 Chryso. et Pyrrophycophytes et 1 Rhodophycophyte ;
- parmi les 45 espéces dont la croissance est stimulée par l'application de GA_3 , 16 sont unicellulaires , 3 coloniales et 26 pluricellulaires ; toutes les espéces (14) qui ne sont pas influencées ou dont la croissance est inhibée par l'application de GA_3 sont unicellulaires sauf une ;
- GA_3 stimule la croissance de toutes les espéces de Cyanophycophytes , Phéophycophytes , Rhodophycophytes et Chlorophycophytes pluricellulaires à condition d'être appliqué à dose convenable ; chez les Chlorophycophytes et les Chryso. et Pyrrophycophytes unicellulaires environ la moitié des espéces soumises aux expériences ont leur croissance stimulée par GA_3 .

Par ailleurs , GA_3 stimule (Tableau 30) :

- l'élongation cellulaire de 1 Cyanophycophyte pluricellulaire et 1 Pyrrophycophyte unicellulaire ;
- la division cellulaire de 14 Chlorophycophytes (dont 8 unicellulaires , 3 coloniales et 3 pluricellulaires) et de 8 Chryso. et Pyrrophycophytes unicellulaires ;
- à la fois l'élongation et la division cellulaires de 5 Cyanophycophytes (dont 1 coloniale et 4 pluricellulaires) , 6 Chlorophycophytes (dont 1 coloniale et 5 unicellulaires) et d'1 Rhodophycophyte pluricellulaire .

GA_3 exerce par contre une action inhibitrice ou nulle sur :

- l'élongation cellulaire d'1 Chlorophycophyte unicellulaire ;
- la division cellulaire de 3 Chlorophycophytes dont 1 unicellulaire et 2 coloniales ;
- l'élongation et la division cellulaires d'1 Chlorophycophyte et d'1 Chrysophycophyte unicellulaires .

ESPECES	AIA		GA_3		K		AUTEURS
	E	D	E	D	E	D	
CYANOPHYCOPHYTES							
Anaboena circinalis	+	+	+	+			DAVIS 1964
" planktonika	+	+	+	+			" "
" variabilis	+	+	+	+	+	+	KIM 1961 et 1962
Aphanizomenon flos-aquae	+	+	+	+			DAVIS 1964
Microcystis aeruginosa C			+	+			ALBERT et al. 1959
Trichodesmium erythraneum			+				RAMAMURTHY 1970
CHLOROPHYCOPHYTES							
Actinastrum hantzchii C				-			ERMOLAEVA et al. 1964
Ankistrodesmus acicularis C				-			" " "
" falcatus C		+					ALGEUS 1946
" fusiformis C				+			ERMOLAEVA et al. 1960
Chlamydomonas moewusii U			+	+			BURDETT et al. 1960
Chlorella sp. U		+					ALGEUS 1946
" "		+					TAUTS et al. 1971
" de Sorokin U			+	+			COHEN et al. 1963
" fusca U			o	o			LIEN et al. 1971
" pyrenoidosa U	+	+					BRANNON 1937
" "				+			PINEVICH et al. 1961
" "			+	+			BENDANA 1967
" "			+	+			OUSHEVA et al. 1968
" vulgaris U		+					BRANNON et al. 1939
" "	+						YIN 1937
" "	o	+					ALGEUS 1946
" "	+						ROBORGH et al. 1948
" "			+	+			COHEN et al. 1963
Coccomyxa simplex C		+					BRANNON et al. 1939
Coelastrum microporum C				+			ERMOLAEVA et al. 1964
" "			+	+			GATES et al. 1966
Dunaliella euchlora U		+		+			GOTTING 1963
" salina U		+		+			GUO et al. 1959
Enteromorpha linza		+					KYLIN 1942
" prolifera		+					JENNINGS 1968
Eudorina elegans C		o		+			TEPASKE et al. 1968
Oocystis sp. U	+	+					BRANNON 1937
Pediastrum boryanum				+			GORYACHEV 1963
" duplex				+			ERMOLAEVA et al. 1964
Polytoma uvella U						+	MOEWUS 1955
Rhizoclonium hieroglyphicum	+	+					DAVIDSON 1952
Scenedesmus acuminatus U		+					ALGEUS 1946
" acutiformis U		+					" "
" bijuga U			-				DAVIS 1964
" dimorphus U		+					ALGEUS 1946
" obliquus U		+					" "
" "				+			ERMOLAEVA et al. 1964
" "				+			SAONO 1964

Scenedesmus quadricauda U		+					ALGEUS 1946
" "				-			ERMOLAEVA et al. 1964
" "				+			SAONO 1964
Spirogyra longata						+	OLSZEWSKA 1958
Staurastrum tretocerum U				+			DAVIS 1964
Stephanoptera gracilis U		+		+			CONRAD 1965
Stichococcus bacillaris		+					ALGEUS 1946
Ulothrix subtillisima		+		+			CONRAD et al. 1959 et 61
Ulva lactuca		+					KYLIN 1942
PYRRO. et CHRYSOPHYCOPHYTES							
Ceratium hirundinella U				+			DAVIS 1964
Euglena sp. U			+				GRIFFIN 1958
" gracilis U		+					ELLIOT 1938 et 1939
" "						+	SUPNIEWSKI et al. 57 a,b
Gymnodinium breve U				+			PASTER et al. 1970
" splendens U				+			BENTLEY-MOWAT et al. 1967
Ochromonas malhamensis U						+	SUPNIEWSKI et al. 1957 a,b
Peridinium sp. U			o	o			JOHNSTON 1963
BACILLARIOPHYCEES							
Asterionella gracillima U				+			ERMOLAEVA et al. 1964
Choetoceros affinis U		+		+			BONIN 1969
Fragillaria capucina U				+			ERMOLAEVA et al. 1964
Melosira sulcata U				+			RAMAMURTHY et al. 1966
Synedra ulna U				+			ERMOLAEVA et al. 1964
RHODOPHYCOPHYTES							
Porphyra tenera			+	+			KINOSHITA et al. 1958

Tableau 30 : Influence des substances de croissance sur la division (D) et l'élongation (E) cellulaires des algues. (Même légende que pour les tableaux 25 et 27).

En ce qui concerne la division cellulaire, MASJUK (1961) rapporte que GA_3 freine le rythme des mitoses lorsqu'il est appliqué à forte concentration sur la Chlorophycée Dunaliella salina. ABBAS et al. (1965) ont montré non seulement que GA_3 peut accélérer ou retarder le rythme des mitoses chez la Vaucheriacée Draparnaldia plumosa mais qu'il peut également provoquer des anomalies mitotiques : chromasomes segmentés, polyploidie, etc...

Seuls JOHNSTON (1963), BENTLEY (1967), BENTLEY et al. (1967) et JENNINGS (1971) ont constaté l'influence de gibbérellines autres que GA_3 sur la croissance des algues. Le tableau 32 montre que les gibbérellines GA_2, GA_4, GA_5 et GA_7 exercent une action généralement stimulante sur la croissance des algues éprouvées. COHEN et al. (1963) ont également constaté l'action stimulante du gibbérellate de potassium sur la division cellulaire et l'augmentation de taille des Chlorelles.

ESPECES	AHIA	AIB	AIP	AIPP	I	IAN	MIA	TI	TA	TO	2.5-H	AUTEURS
CYANOPHYCOPHYTES												
Anacystis nidulans	+/- C				o C			+/- C	o/- C		+/- C	AHMAD et al. 1960 b, 1970
Chlorogloea fritschii	+/o C				+ C			+ C	+ C	+ C	+ C	" " " "
Nostoc muscorum	+/- C				+/- C			+/- C	+/- C	+/- C	+/- C	" " " "
Phormidium faveolarum	+/o C				o C			-/o C	+/- C		+ C	" " " "
Tolypothrix tenuis	+ C				+ C			+/- C	+ C			" " " "
CHLOROPHYCOPHYTES												
Acetabularia mediterranea						+ C	+ C			+ C		DAO 1954 et 1956 THIMANN et al. 1959
Batophora oerstedi									+ C			PUISEUX-DAO 1957
Chlorella sp.		+ D		+ D								ALGEUS 1946
" pyrenoidosa			+ ED									BRANNON 1937
" vulgaris		+ D		+ D								BRANNON et al. 1939
" "		+ C		+ C								PRATT 1938. ALGEUS 1946
Coccomyxa simplex			+ D	+ D								BRANNON et al. 1939
Mesotoenium caldariorum		o C		o C								" " "
Nitella flexilis		+ C										SANDAN 1958
Oocystis sp.			+ E									BRANNON 1937
Rhizoclonium hieroglyphicum		+ ED										DAVIDSON 1952
Scenedesmus obliquus		+/- D		+ D								ALGEUS 1946
PYRRO et CHRYSOPHYCOPHYTES												
Euglena gracilis		+ D										ELLIOT 1938, 1939
PHEOPHYCOPHYTES												
Ascophyllum nodosum		- C										DAVIDSON 1950
Fucus evanescens		+ C							o C			" "

Tableau 31 : Influence des composés indoliques, autres que l'AIA, sur la croissance des algues. (C = croissance globale, l'auteur ne précise pas s'il s'agit d'élongation ou de division cellulaires ou des deux, D = division cellulaire, E = élongation cellulaire. AHIA = acide 5-hydroxy-indolyl-3-acétique, AIB = acide indolyl-3-butyrique, AIP = acide indolyl-3-pyruvique, AIPP = acide indolyl-3-propionique, I = indole, IAN = indolyl acétonitrile, MIA = méthyl indolyl acétate, TI = tryptamine, TA = tryptophane, TO = tryptophol, 2.5-H = 2.5-hydroxytryptamine. Pour le reste : même légende que pour le tableau 25).

ESPECES	GA_1	GA_2	GA_3	GA_4	GA_5	GA_7	AUTEURS
1) Cyanophycophytes :							
Anaboena sp.			-				JO
2) Chlorophycophytes :							
Nannochloris oculata	+	+	+	+			B
3) Pyrrophycophytes :							
Gymnodinium breve	+	+	+	+			B
" splendens	+	+	+	+			B
Peridinium sp.	-			+	+	+	JO
4) Chrysophycophytes :							
Chaetoceros sp.	-				+	+	JO
Ditylum brightwelli	-		-		+	+	JO
Navicula sp.	-		-		-	+	JO
Nitzchia closterium	-		+		+	+	JO
" delicatissima	-		+	-	+	-	JO
Phaeodactylum tricornutum J	+	+	+	+			B
" " A	-	+	+	-			B
Skeletonema costatum	-				+	+	JO
Thalassiosira gravida	-		-	-	+	+	JO
5) Rhodophycophytes :							
Gracilaria verucosa			+/-			+/-	JE
Hypnea musciformis			-			-	JE

Tableau 32 : Influence de quelques gibbérellines sur la croissance des algues . (D'après JOHNSTON 1963 = JO , BENTLEY 1967 et BENTLEY et REID 1967 = B , JENNINGS 1971 = JE , même légende que pour le tableau 25 , J= jeune , A= Adulte) .

Parmi les espèces dont la croissance est stimulée par l'application des gibbérellines , certaines ont fait l'objet d'analyses biochimiques qui ont révélé l'existence , dans les thalles, de substances de nature gibbérellique; il s'agit de 4 Chlorophycées (Caulerpa prolifera , Enteromorpha prolifera , Dedogonium cardiacum et Tetraselmis sp.), d'une Phéophycée (Ecklonia radiata) et de 3 Rhodophycées (Petroglossum nicaeense , Porphyra leucosticta et P. tenera). Au niveau générique il est possible d'ajouter à cette liste la Chlorophycée unicellulaire Chlamydomonas (C. moewusii et C. reinhardi) .

Dans l'état actuel de nos connaissances il est donc indéniable que des substances de nature gibbérellique sont présentes dans le thalle des algues et qu'elles participent à la régulation de la croissance . Néanmoins , si cette conclusion s'applique parfaitement aux algues pluricellulaires , elle doit être plus nuancée en ce qui concerne les algues unicellulaires dont la croissance n'est pas toujours stimulée par GA_3 .

c) Kinétine et purines

L'étude de l'influence de la K sur la croissance des algues a fait l'objet d'un nombre plus réduit de travaux que les auxines et les gibbérellines (tableaux 25,26,27,28 et 29) :

- 15 chercheurs ou groupes de chercheurs ont constaté l'influence stimulante de la K sur la croissance de 2 Cyanophycophytes, 12 Chlorophycophytes, 2 Pyrro. et Chrysophycophytes, 5 Phéophycophytes et 2 Rhodophycophytes et l'influence inhibitrice ou nulle sur la croissance de 7 Chlorophycophytes, 1 Pyrrophycophyte et 1 Phéophycophyte ;
- parmi les 23 espèces dont la croissance est stimulée par l'application de K, 14 sont pluricellulaires et 9 unicellulaires, sur les 9 espèces dont la croissance est inhibée ou non influencée 3 sont pluricellulaires et 6 unicellulaires .

Le tableau 30 montre, en outre, que 4 chercheurs seulement ont essayé de voir si la K influence plus particulièrement la division ou l'élongation cellulaires. Il semble que c'est surtout la division cellulaire qui est affectée. Il n'est cependant pas possible de tirer des conclusions définitives à partir de ces travaux trop fragmentaires.

On peut rapprocher de l'action de la K celle de diverses autres purines ; cette étude a été entreprise sur Acetabularia sp. (BRACHET 1959), A. mediterranea (DE VITRY 1962), Spirogyra longata (OLSZEWSKA 1958), Porphyra sp. (TERAMOTO et al. 1960), P. tenera (IWASAKI 1965) pour l'adénine ; on a aussi fait agir de la 6-benzylaminopurine sur Chlorella pyrenoidosa (OUSHEVA et al. 1968) et de la 6-α-pyridilpurine sur Euglena gracilis (SUPNIEWSKI et al. 1957 a et b.

L'analyse des extraits de 8 espèces appartenant à 5 embranchements différents a permis à 4 chercheurs ou groupes de chercheurs de mettre en évidence l'existance, chez les algues, de substances de type cytokinine. Aucune d'elles n'a été pour l'instant chimiquement identifiée mais elles présentent néanmoins des propriétés analogues à celles des cytokinines des végétaux supérieurs. Par ailleurs, la K et diverses autres purines exercent, dans de nombreux cas, une action stimulante sur la croissance des algues. Il n'est donc pas interdit de penser que les cytokinines doivent jouer un rôle non négligeable dans la régulation de la croissance des algues ; il serait toutefois prématuré de tirer des conclusions définitives à partir de ces résultats encore trop fragmentaires. De nouvelles expériences sont nécessaires qui devront porter d'une part sur des essais d'identification des cytokinines endogènes des algues et d'autre part sur les réactions de celles-ci à l'égard des cytokinines naturelles récemment identifiées chez les Spermaphytes et les bactéries (Cf. AUGIER et al. 1972).

d) Autres substances

Les résultats obtenus avec le 2.4-D et l'ANA (auxines de synthèse) ont été consignés dans le tableau 33. L'ANA se montre particulièrement favorable à la croissance des algues puisque 15 espèces sur 18 sont

stimulées par l'application de cette substance . Le 2.4-D ne semble pas aussi efficace ; son influence est favorable pour 4 espèces et défavorable ou nulle pour 3 autres. SCHROSER a montré, en 1970, que le 2.4-D, appliqué à la Chrysophycée d'eau douce Poteriochromonas stipitata, peut exercer une influence totalement différente selon la concentration utilisée : à forte concentration il provoque la mort des cellules, à faible concentration il engendre une croissance cellulaire excessive pouvant conduire au gigantisme.

Par ailleurs, JENNINGS (1968) a noté une influence négative de l'acide abscissique sur la croissance de la Rhodophycée Hypnea musciformis .

Dans l'état actuel de nos connaissances, il est donc prouvé que le thalle des algues renferme des substances de même nature que les auxines, les gibbérellines et les cytokinines, substances qui interviennent dans la régulation des phénomènes de croissance . Mais dans le cas des algues comme dans celui des végétaux supérieurs, bien des points restent obscurs . La réaction des algues à l'application d'hormones n'est parfois pas la même pour des espéces ou des genres voisins, en milieu naturel et en culture, selon la présence ou l'absence d' autres substances dans le milieu nutritif, etc... D'autres composés endogènes interviennent également comme par exemple les inhibiteurs de croissance qui contrebalancent l'action des facteurs favorables. On ignore encore le mode d'action exact des hormones, la place qu'elles occupent et l'importance qu'elles ont dans la suite des réactions qui conduisent à la croissance.

De nombreuses lacunes sont encore à combler dans les études portant sur la croissance et les algues qui sont plus simples que les autres végétaux utilisés jusqu'à présent, représentant un matériel de choix pour aborder les problèmes actuellement en suspens.

Je rappelerai pour terminer que certains résultats ont été obtenus à l'aide de cultures de fragments de tissus isolés des thalles (tableaux 26, 27 et 29). C'est aussi par ce moyen que SCHIEWER (1965) et SCHIEWER et al. (1967) ont mené à bien leurs expériences sur la biogenèse de l'AIA chez les algues. La méthode des cultures in vitro mérite donc d'être largement appliquée aux algues.

2°) Tropismes et périodismes

L'action des hormones sur les tropismes et les périodismes a fait l'objet d'un nombre relativement important d'expériences chez les Spermaphytes mais par contre elle n'a guère suscité de travaux chez les algues.

ESPECES	2.4-D	ANA	AUTEURS
CHLOROPHYCOPHYTES :			
Acetabularia mediterranea		+ C	THIMANN et al. 1959
Batophora oerstedi		- C	PUISEUX DAO 1957
Caulerpa prolifera	o		AUGIER 1972 (Thèse)
Choetomorpha linum		+ ED	LUCK 1962
Chlorella sp.	o/- C	+ D	ALGEUS 1946, TAMIYA et al. 1955
" pyrenoidosa		+ ED	BRANNON 1937
" vulgaris		+ D	BRANNON et al. 1937, 1939
" "		+ ED	ALGEUS 1946
Coccomyxa simplex		+ D	BRANNON et al. 1939
Mesotoenium caldariorum		o C	" " "
Nitella flexilis	+ C	+ C	SANDAN 1958
Oedogonium cardiacum	+ C		KIM et al. 1961 et 1962
Oocystis sp.		+ E	BRANNON 1937
Rhizoclonium hieroglyphicum		+/- ED	DAVIDSON 1952
Scenedesmus obliquus		+ D	ALGEUS 1946
Ulva rigida		- C	AUGIER 1972 (Thèse)
PYRRO et CHRYSOPHYCOPHYTES :			
Euglena gracilis		+ D	ELLIOT 1939
Poteriochromonas stipitata	+/- ED		SCHRÖDER et al. 1967
Vaucheria sessilis	- C		KIM et al. 1961 et 1962
PHEOPHYCOPHYTES :			
Ascophyllum nodosum		+ C	DAVIDSON 1950
Fucus evanescens		+ C	" "
" vesiculosus	+/- C	+/- C	MOSS 1965

Tableau 33 : Influence du 2.4-D et de l'ANA sur la croissance des algues.
(Même légende que pour les tabeaux 25 et 31).

Pourtant, dès 1906 HABERLANDT décrit le phototropisme de Caulerpa prolifera et, après lui, de nombreux auteurs signalent le géotropisme ou le phototropisme positifs ou négatifs d'algues adultes, de gamètes, de zygotes, de plantules (KYLIN 1942, HAMMERLING 1952, WEBER 1958, OGATA 1960, etc...). Seule PUISEUX-DAO a décrit, en 1957, l'influence des auxines sur le phototropisme de la Chlorophycée Batophora oerstedi : des fragments anucléés isolés du thalle présentent une courbure phototropique, augmentée lorsque le milieu de culture contient du tryptophane ou de l'AIA. Ce mode d'action de l'auxine, comparable à celui observé chez les végétaux supérieurs, démontre, en outre, que le phénomène d'élongation cellulaire qui en résulte est indépendant du noyau.

IWASAKI (Cf. PROVASOLI 1961) a montré que le thalle de la Rhodophycée Porphyra tenera se comporte comme une plante de jour court et que la production et la mise en liberté des spores, de même que la phase Conchocelis sont sous la dépendance de la photopériodicité, des substances de nature hormonale devant nécessairement intervenir dans ces mécanismes. Ces observations n'ont malheureusement pas été complétées par des tentatives d'extraction et d'identification des substances responsables.

3°) Vie ralentie

Le phénomène de vie ralentie qui affecte les semences et certains organes (les bourgeons par exemple) des Spermaphytes (Cf. CHAMPAGNAT et al. 1969) existe également chez les algues. C'est le cas par exemple du protonema de Porphyra leucosticta, des spores de Cladophora lanosa, des parties basales vivaces de Rissoella verruculosa, des stolons de Caulerpa prolifera, etc... (Cf. FELDMANN 1937). Dans le cas des Phanérogames, les chercheurs sont en général persuadés que les hormones contrôlent les mécanismes de vie ralentie et que d'autres composés doivent également intervenir parmi lesquels figurent en bonne place des inhibiteurs spécifiques. Chez les algues on ne dispose d'aucune indication à ce sujet. Les expériences réalisées en 1968-1969 puis en 1971-1972 avec la Rhodophycée Rissoella verruculosa et qui consistaient à appliquer des hormones sur les bases vivaces en dormance seules présentes sur les rochers, se sont soldées par un échec. Ce résultat négatif ne signifie pas nécessairement que les phytohormones n'ont aucune influence sur le retour à la vie active ; d'autres expériences, utilisant différentes techniques et s'adressant à de nombreuses espèces, devront être entreprises.

4°) Morphogenèse

Les résultats des expériences relatives à l'influence des régulateurs de croissance sur la morphogenèse de fragments de tissu prélevés sur le thalle de diverses algues sont schématiquement consignés dans le tableau 34. Ce tableau montre que les substances utilisées sont en général favorables à la morphogenèse mais l'évaluation quantitative et qualitative de cette action diffère selon des modalités qui sont propres à chaque espèce.

Des disques de tissus isolés à l'emporte-pièces du thalle de Porphyra leucosticta ou d'Ulva rigida forment le même tissu que le thalle dont ils sont issus, le phénomène étant accéléré par GA_3 dans le cas de Porphyra et par l'AIA, la K et GA_3 dans le cas d'Ulva. MULLER-STOLL (1952) a montré que l'AIA accélère de la même façon la morphogenèse des disques isolés du thalle d'Ulva lactuca. Au cours de ces expériences, les disques de tissus se comportent comme s'ils se trouvaient encore au sein du thalle découpé puisqu'ils continuent leur croissance selon les mêmes modalités que le thalle entier. Cette particularité suggère que l'influence des hormones s'apparente davantage dans ce cas à une action sur les mécanismes de la croissance que sur ceux de la morphogenèse. Il n'en est pas entièrement de même dans le cas des expériences réalisées avec Petroglossum nicaeense (Cf. p. 190). Des fragments de tissus prélevés à 10 mm du sommet des thalles ne donnent naissance ni à de nouvelles frondes ni à des "stolons" mais à des néoformations filamenteuses

ESPECES	AIA	GA_3	K	A	AUTEURS
CHLOROPHYCOPHYTES					
Acetabularia crenulata			+		SPENCER 1968
" mediterranea	+	+	+	+	THIMANN et al. 1959, DE VITRY 1962, ZETSCHE 1963
Bryopsis plumosa	+				JACOBS 1951 a et b
Caulerpa prolifera	+	+	+	+	AUGIER 1972 (Thèse)
Enteromorpha clathrata et	+				MULLER-STOLL 1952
" compressa					
Nitella flexilis	+	+			SANDAN et al. 1957, SANDAN 1958 et 1959
Ulva lactuca	+				MULLER-STOLL 1952
" "	+		+	+	PROVASOLI 1957, 1958 a et b
" rigida	+	+	+		AUGIER 1972 (Thèse)
PHEOPHYCOPHYTES					
Ectocarpus fasciculatus			+		PEDERSEN 1968
Fucus vesiculosus	+/-				MOSS 1958 et 1965
Pylaiella litoralis			+		PEDERSEN 1968
RHODOPHYCOPHYTES					
Petroglossum nicaeense	+	+	+		AUGIER 1972 (Thèse)
Porphyra leucosticta		+			" " "
Pterocladia capillacea	+				FELICINI et al. 1967 FELICINI 1970

Tableau 34 : Influence de l'acide indolyl-3-acétique (AIA), de l'acide gibbérellique (GA_3), de la kinétine (K) et de l'adénine (A) sur la morphogenèse des algues. (+ = influence favorable, +/- = influence favorable ou non selon les conditions de l'expérience).

indifférenciées dont la longueur et le nombre sont influencés par les phytohormones. PROVASOLI (1957) obtient les mêmes résultats en cultivant des zygotes ou des fragments de thalle d'Ulva lactuca dans un milieu synthétique en présence ou non de phytohormones.

Les expériences précédentes s'adressent à des algues dont les tissus isolés engendrent toujours le même type de tissu, qu'il soit semblable ou non au thalle découpé. D'autres expériences ont été réalisées avec des algues dont l'histogenèse peut conduire à la formation de divers types d'organes. MULLER-STOLL (1952) observe que l'AIA accélère non seulement l'apparition de néoformations lamellaires sur les bords de fragments de tissus isolés du thalle d'Enteromorpha clathrata et E. compressa mais également la morphogenèse des rhizoïdes. SANDAN et al. (1957) et SANDAN (1958 et 1959) ont montré que les cellules internodales isolées de Nitella flexilis sont capables de produire chacune un ou plusieurs rhizoï-

des et que l'AIA et GA_3 diminuent à la fois le temps de formation des rhizoïdes et du bourgeon . En ce qui concerne l'ANA son action se manifeste seulement sur la formation des rhizoïdes. Comme on l'a vu plus haut, les modalités de la morphogenèse de Caulerpa prolifera sont d'une complexité beaucoup plus grande. La néoformation des "feuilles" sur les "stolons" isolés du reste du thalle est accélérée par GA_3 mais n'est pas influencée par l'AIA, la K et le 2.4-D. La néoformation de "feuilles" sur des "feuilles" isolées du thalle est faiblement activée par GA_3, plus fortement par l'AIA et par la K. La formation de "feuilles" sur des "feuilles" isolées et privées d'apex est accélérée par l'AIA et freinée par GA_3. Enfin l'action des hormones sur la morphogenèse des "feuilles" coupées en deux transversalement est différente selon que l'on s'adresse à la demi-"feuille" supérieure ou à la demi-"feuille"inférieure.

Les expériences réalisées avec Caulerpa prolifera ont montré également que dans certains cas les hormones sont capables d'orienter la nature des néoformations. C'est ainsi que dans les conditions de mes expériences GA_3 est la seule hormone qui ait provoqué l'apparition de "stolons" sur des "feuilles" isolées et l'adénine celle de néoformations filamenteuses infifférenciées sur des "stolons" isolés du reste du thalle. JACOBS (1951 a et b) a obtenu un résultat similaire avec une autre Chlorophycée à structure siphonée, Bryopsis plumosa, chez laquelle l'application d'AIA est seule capable de provoquer la différenciation de rhizoïdes sur des fragments de thalles. Les expériences de PROVASOLI (1958 a et b) sont encore plus significatives. Des fragments de tissus isolés du thalle d'Ulva lactuca et cultivés sur un milieu synthétique donnent naissance à des néoformations courtes et filamenteuses qui ne se développent jamais en thalles foliacés. Ces filaments palissent lorsqu'ils ont atteint quelques millimètres de longueur en laissant quelques îlots de cellules d'un vert intense qui, aprés transfert dans un nouveau milieu de culture , produisent de nouveaux filaments. L'apparition de ces filaments de même que leur longueur sont accélérés si GA_3 ou un mélange de K et d'AIA sont ajoutés au milieu nutritif. Néanmoins ces fragments de thalles ne donnent jamais un thalle normal. Par contre, si le milieu nutritif contient un mélange de K et d'adénine, la morphogenèse conduit à un thalle foliacé identique à celui de l'algue adulte. Confirmant ces résultats , PEDERSEN (1968) a signalé que les Phéophycées Ectocarpus fasciculatus et Pylaiella litoralis cultivées en laboratoire sur un milieu synthétique avaient besoin de K pour une morphogenèse normale .

Les phytohormones sont donc capables dans certains cas, non seulement d'accélérer la morphogenèse des algues et de modifier la proportion des différents "organes" néoformés mais encore d'orienter radicalement la

nature des néoformations. Ces résultats ne sont cependant pas suffisants pour assimiler les phytohormones à des substances organoformatrices assurant à elles seules la régulation des mécanismes de la morphogenèse chez les algues. De nombreuses expériences montrent que le problème n'est pas aussi simple qu'il paraît , comme en témoignent les exemples suivants :

- l'AIA augmente la néoformation des "feuilles" sur les "stolons" des Caulerpes entières, mais n'exerce aucune influence sur la différenciation des "feuilles" sur les "stolons" isolés du reste du thalle ;
- les frondes entières de Petroglossum niceense sont capables de produire des frondes et des "stolons" et cette morphogenèse est accélérée par les phytohormones ; par contre des portions de frondes ne peuvent donner naissance qu'à des filaments indifférenciés et, si les hormones peuvent augmenter le nombre et la longueur de ces filaments, elles sont incapables de provoquer l'apparition de frondes et de "stolons" ;
- la morphogenèse des cellules internodales de Nitella flexilis peut être modifiée par GA_3 et l'AIA, elle peut l'être également pour d'autres substances de nature différente : ANA, acides aminés, KCN, NaF, etc...

Les expériences réalisées avec l'algue unicellulaire Acetabularia mediterranea permettent d'apprécier actuellement la complexité du problème posé par la morphogenèse des algues. THIMANN et al. 1959, DE VITRY 1962, ZETSCHE 1963 et SPENCER 1968 ont montré que l'AIA, la K, l'ANA, l'adénine et GA_3, appliqués à des doses convenables, exercent une influence favorable sur la formation de la "tige" et du "chapeau". Ils considèrent cependant que ce pouvoir n'est pas suffisant pour permettre d'assimiler ces hormones à des substances morphogenétiques ni même à leurs précurseurs. Elles agiraient ici, comme chez les autres algues, en favorisant simplement une ou plusieurs réactions métaboliques conduisant à la formation de la portion du thalle considérée. Cette hypothèse est renforcée par les expériences récentes de BRACHET (1968), BRACHET et al. (1970) et BONOTTO et al. (1971) qui permettent de concevoir un modèle susceptible d'expliquer la différenciation morphologique des Acétabulaires. Selon ce modèle, pendant la croissance végétative de la cellule, le noyau déverserait dans le cytoplasme des "substances morphogenétiques" qui s'accumuleraient dans la région apicale du siphon axial. Ces substances que l'on assimile à des RNA-messagers de longue vie (BRACHET 1970) assureraient, à un moment donné, la synthèse des enzymes nécessaires à la construction du "chapeau" reproducteur et seraient ensuite dégradées (FARBER 1969, FRONSON et al. 1970). Le processus de la différenciation du "chapeau" serait encore contrôlé par des facteurs cytoplasmiques intervenant au niveau de la traduction (ZETSCHE et al. 1970).

Cette énumération rapide montre combien sont multiples, complexes et hypothétiques les mécanismes qui entrent en jeu dans les phénomènes de la morphogenèse. Elle souligne également notre totale ignorance du rôle exact de nombreuses substances intervenant dans ces mécanismes et parmi lesquelles les phytohormones ne doivent être considérées que comme de simples maillons de la longue chaîne métabolique de la différenciation cellulaire.

5°) Dominance apicale

On observe chez certaines algues le phénomène décrit chez les végétaux supérieurs sous le nom de "dominance" ou "contrôle" apical dans lequel la morphogenèse est sous la dépendance des apex. On a vu par exemple que le pouvoir morphogenétique des "feuilles" isolées du thalle de Caulerpa prolifera était considérablement augmenté par l'ablation de l'apex. Chez les Phanérogames, on pense que cette "dépendance" résulterait d'un équilibre subtil entre différents médiateurs chimiques (activateurs ou inhibiteurs) contenus dans la plante (Cf. SCOTT et al. 1967) ; il semble qu'il en soit de même chez les algues.

L'exemple des Fucacées est tout à fait significatif (BURROWS 1947 et 1956, KNIGHT 1947, MOSS 1964 et 1965). Si l'on décapite les frondes de ces algues, on observe un développement rapide et important des ramifications latérales ce qui suggère que celles-ci sont normalement inhibées par l'apex principal. Ce phénomène est particulièrement net quand on cultive des segments découpés dans le thalle : les segments prélevés dans la partie médiane de l'axe principal ou des "branches" secondaires produisent rapidement un grand nombre de ramifications sur les deux surfaces de section tandis que les segments apicaux s'allongent, se ramifient par dichotomie mais demeurent incapables de produire des rameaux secondaires. Si l'on détruit le méristème du segment apical, les ramifications apparaissent de la même manière que chez les segments de la région médiane du thalle. La morphogenèse est donc, dans ce cas, sous la dépendance de la zone apicale. Si l'on cultive, dans un milieu contenant des antiauxines, les segments apicaux sans détruire le méristème, les ramifications apparaissent comme chez ceux auxquels on a enlevé la cellule apicale(1). Par ailleurs, des analyses chimiques réalisées sur les segments apicaux (MOSS 1965) y révèlent la présence de substances stimulantes et inhibitrices de la croissance. Il convient de rappeler à ce sujet que VAN OVERBEEK (1940 a) a observé la teneur la plus élevée en auxines dans la partie apicale par rapport au

---

(1) Un résultat similaire a été obtenu par FELICINI et al. (1967) avec la Rhodophycée Pterocladia capillacea par l'application d'antiauxines sur les portions apicales isolées du reste du thalle.

reste du thalle de Macrocystis, de même que WILLIAMS (1949) chez Laminaria agardhii. Je suis parvenu à la même conclusion lors des analyses de Cystoseira stricdont l'apex présente non seulement le taux d'auxines le plus élevé mais également la concentration d'inhibiteurs la plus faible par rapport au reste du thalle .

Des expériences analogues à celles réalisées chez les Phéophycées ont été faites sur les Characées (Chara foetida et C. hispida) par LIBBERT et al.(1965) qui ont montré que les mécanismes de régulation de la dominance apicale, semblables à ceux qui interviennent chez le pois (Pisum sativum), sont en partie sous le contrôle d'hormones .

II.- ROLE DANS LA MULTIPLICATION VEGETATIVE ET LA REPRODUCTION SEXUEE

En 1958, GRIFFIN constate que des concentrations supérieures ou inférieures à 1000 ppm de GA_3 provoquent la formation de kystes chez Euglena sp. KURANCOWA (1966) note une réduction de la division des palmelles sous l'action du 2.4-D et de son sel sodique . Enfin, en 1960, TERAMOTO et al. montrent que l'addition de purines et en particulier d'adénine au milieu de culture déclanche la reproduction asexuée de Porphyra sp.

En ce qui concerne le reproduction asexuée par autospores, les premières expériences ont été réalisées sur les Vaucheries. HUSTEDE (1957) rapporte que la "synsporulation" de Vaucheria sessilis est stimulée par le tryptophane, l'AIA, la tryptamine, le tryptophol, l'acide indolyl-3-propionique, l'acide indolyl-3-glyoxylique et inhibée par l'indolyl aldéhyde et l'acide indolyl-3-carboxylique. Le tryptophane est même capable de déclancher la sporulation lorsque les conditions de milieu ne le permettent pas. Quelques années plus tard, KIM (1961) montre chez la même espèce que GA_3 est également favorable à la formation des spores. RIETH (1969) souligne que l'AIA n'a pas d'influence bien nette sur la "germination des aplanospores" de Vaucheria dichotoma et V. woroniniana et qu'il peut même exercer une action inhibitrice selon sa concentration. En 1971, LIEN et al. constatent que GA_3 n'a aucun effet sur la " sporulation " de Chlorella fusca, ainsi que l'AIA qui deviendrait même inhibiteur à certaines concentrations. Enfin, comme je l'ai montré précédemment, l'AIA, la K et surtout GA_3 augmentent la production d'aplanospores chez Dilophus fasciola variété repens en culture dans le microphycotron.

Il convient de citer aussi le travail de NASR et al. (1969) qui montre que le traitement d'Ulva lactuca avec de fortes concentrations d'AIA (5 mg/l) augmente la formation des "zoospores", assimilables dans le cas de cette espèce à des spores réductionnelles.

En 1957, HUSTEDE constate que la formation des " zoospores " de Stigeoclonium facklandicum est stimulée par l'AIA. Le cycle de cette Ulothricale étant digénétique et diplohaplophasique, il est difficile de déterminer la nature exacte de ces " zoospores ". En 1960, LERSTEN et al. montrent que si l'extrait de sol augmente la production des " zoïdes " chez Enteromorpha clatrata, E. intestinalis, E. linza et E. sp., l'AIA a, par contre, une influence négative ou nulle sur ce phénomène. Il pourrait s'agir ici de gamétes car les auteurs croient observer dans quelques cas une copulation des " zoïdes ". Enfin, en 1963, JOHNSTON note une action favorable de GA_3 sur la formation des "spores" de Choetoceros sp. et Thalassiosira gravida. Ces espèces étant des Diatomées, il pourrait s'agir " d'auxospores ", forme particuliére de la reproduction sexuée dans ce groupe d'algues, mais l'auteur ne précise pas si les "spores" sont de cette nature.

BONIN (1969) étudie l'action de l'AIA et de GA_3 sur l'auxosporulation de Choetoceros affinis. Cet auteur ne constate aucune influence notable de ces deux hormones mais il précise que les résultats ont pu être faussés au départ par le fait que la souche utilisée venait précisemment de franchir la période auxosporique juste avant le début de l'expérience. L'influence des hormones a été également étudiée sur les gamétes mâles: DU BUY et al. (1937) rapportent que l'AIA diminue en général la mobilité des anthérozoïdes de Fucus vesiculosus. OLSON et al. (1937) montrent par ailleurs que l'AIA est capable de polariser la croissance des rhizoïdes sur la cellule oeuf de Fucus vesiculosus tandis que DAVIDSON (1950) note une accélération de la germination de l'oeuf sous l'action de l'AIA.

Enfin DENFFER et al. (1955), puis HUSTEDE (1957) font état des observations suivantes :

- la formation des gamétanges est favorisée par l'acide indolyl-3-carboxylique, l'indole et l'indolyl aldéhyde chez Vaucheria geminata, V. sessilis et V. synandra;
- le tryptophane inhibe la formation des gamétanges chez V. sessilis ;
- l'AIA, appliqué à une concentration appropriée, est capable de dédifférencier les jeunes ébauches de gamétanges chez V. sessilis ;
- la formation des oogones est stimulée par l'acide indolyl-3-carboxylique chez V. sessilis .

III.- INFLUENCE SUR QUELQUES METABOLISMES

Si l'on fournit des phytohormones à une algue, celle-ci réagit en modifiant sa croissance, son développement ou sa reproduction. Mais d'autres processus, moins directement observables et concernant le métabolisme mê-

me des tissus traités, sont également affectés. On se rend compte de l'existence de tels phénomènes en étudiant la composition chimique des tissus utilisés, la variation des propriétés cellulaires et des échanges respiratoires ou encore la modification de l'assimilation chlorophyllienne.

1°) Propriétés cellulaires

L'AIA appliqué à faible concentration accélère temporairement ou en permanence le mouvement du cytoplasme dans les cellules internodales isolées de Nitella flexilis (SANDAN et al. 1957). BENNETT (1955) note que si l'on place des cellules de Nitella sp. dans une solution d'AIA, la cyclose cesse, puis on assiste à la migration du cytoplasme vers la membrane de la cellule. L'auteur établit une correspondance entre ce phénomène et la résistance électrique des parois. Les cellules traitées par de l'AIA, du 2.4-D et de l'acide 2-méthyl-4-chlorophénoxyacétique présentent toujours une forte augmentation de la résistance électrique des parois. Ce phénomène n'est toutefois pas immédiat ; il apparaît aprés un temps d'autant plus long que la concentration de l'auxine est plus faible. STOLAREK (1968 a) indique que l'AIA augmente la différence de potentiel électrique entre la vacuole et la surface externe des cellules internodales de Chara fragilis, Lichnothamus barbatus, Nitella syncarpa et N. translucens.

Peu de travaux ont été consacrés à l'action des substances de croissance sur la pénétration des ions et de diverses substances dans les cellules des algues. WEDDING et al. rapportent, en 1959, que le 2.4-D provoque une diminution prononcée de la perméabilité des cellules de Chlorella pyrenoidosa aux sucres en C^{14}, mannitol C^{14} et $P^{32}O_4$; celle de $S^{35}O_4$ et $Na^{22}Cl$ n'est par contre pas affectée. En 1961, ces auteurs montrent, sur la même espèce, que le 2.4-D inhibe l'incorporation de $P^{32}O_4$ dans les nucléotides. STOLAREK signale, en 1968, que le 2.4-D n'a aucune influence sur l'absoption du potassium radioactif mais que l'AIA provoque une augmentation importante de l'absoption de cet ion .

2°) Echanges respiratoires

Les renseignements sont encore fragmentaires en ce qui concerne les échanges respiratoires. L'indole stimule la respiration de Chlorella vulgaris (BACH et al. 1960) et l'AIA celle de Porphyra tenera (OGATA et al. 1964). Le 2.4-D provoque une modification du quotient respiratoire de Chlorella pyrenoidosa (WEDDING et al. 1961). BACH et al. (1959, 1960,1961) et BACH (1961) ont étudié enfin l'action d'une centaine de substances sur la respiration de 12 espèces d'algues (Anacystis nidulans, Ankistrodesmus falcatus, Chlorella ellipsoidea, C. luteoviridis, C. pyrenoidosa, C. variegata, C. vulgaris, C. xanthella, Chloridella minuta, Chlorococcum macrostigmatum, Coelastrum microsporum et Euglena

gracilis). Ces auteurs ont noté une stimulation parfois importante de la respiration avec la K, l'adénine et un grand nombre d'autres purines ; parmi ces dernières la 6-mercaptopurine, la purine, la 6-cyanopurine, la 6-thiocyanopurine et la 2-azahypoxanthine se sont révélées les plus actives.

3°) Photosynthèse

Les travaux consacrés à l'action des substances de croissance sur les processus photosynthétiques sont peu nombreux. Le 2.4-D se montre en général défavorable à l'assimilation chlorophyllienne : il inhibe la photosynthèse de Chlorella pyrenoidosa (ERICKSON et al. 1955) et provoque la décoloration des chloroplastes d'Euglena gracilis (KURANCOWA 1966). Des résultats semblables ont été obtenus avec les végétaux supérieurs (Cf. PILET 1961). Les autres régulateurs de croissance se révèlent au contraire favorables à la photosynthèse. OUSHEVA (1968) rapporte que GA_3 augmente la quantité de pigments chez Chlorella pyrenoidosa en culture. RAJU (1971), en utilisant des produits marqués au C^{14}, montre que GA_3 augmente l'incorporation du C^{14} chez Ulva fasciata, Sargassum sp. et Gracilaria corticata en intensifiant la photosynthèse, phénomène qui traduit, selon l'auteur, une accélération des métabolismes au sein des algues expérimentées. En ce qui concerne les composés indoliques, seul MULLER-STOLL (1952) relate que l'AIA augmente la taille des chromatophores d'Enteromorpha clathrata et E. compressa.

La K a une action particulièrement efficace limitant la dégradation de la chlorophylle comme j'ai pu le constater en laboratoire sur des cultures de Bryopsis muscosa, Ceramium ciliatum et de disques isolés de thalles de Porphyra leucosticta et Ulva rigida. BENTLEY-MOWAT et al. (1967) mentionnent également que la K augmente la teneur en chlorophylle de Gymnodinium splendens et Phaeodactylum tricornutum même chez les algues agées. HOFFMANN (1969) signale que la K peut même retarder la destruction de la chlorophylle due à des conditions de milieu défavorables chez la Chlorophycée Monostroma balticum et qu'elle modifie, par ailleurs, les proportions de chlorophylles a et b. OUSHEVA constate, en 1968, qu'une autre purine, la 6-benzylaminopurine, intensifie l'assimilation chlorophyllienne de Chlorella pyrenoidosa dont le métabolisme général se trouve alors accéléré. Enfin HOFFMANN et al. (1970), étudiant l'action de la K sur la teneur en pigments des Cyanophycées Oscillatoria animalis et Phormidium favosum, remarquent en particulier que la K retarde la dégradation de la phycoérythrine, l'effet étant plus important à l'obscurité qu'à la lumière.

4°) Composition chimique

SCHRODER et al. (1967) montrent que le 2.4-D agit avec afficacité sur la biosynthèse des acides nucléiques de la Chrysophycée d'eau

douce Poteriochromonas stipitata et SPENCER (1968) que la K augmente légèrement la formation des phosphatases acides chez Acetabularia crenulata. Mais c'est essentiellement l'action des hormones sur la teneur en protéines et en acides aminés du cytoplasme qui a été étudiée.

OUSHEVA et al. (1968) constatent que la 6-benzylaminopurine augmente la synthèse des protéines chez Chlorella pyrenoidosa. KURAISHI et al. (1968) signalent que l'AIA stimule l'incorporation de la proline marquée au C^{14} dans les cellules internodales de Chara globulis. NASR et al. (1969) obtiennent une augmentation concomitante de la croissance et du taux d'azote total de Dictyota dichotoma, Pterocladia capillacea et Ulva lactuca en ajoutant de l'AIA au milieu de culture.

Les expériences réalisées avec Petroglossum nicaeense (AUGIER et al. 1972 a et b) complètent les observations de ces trois équipes de chercheurs (tableaux 20 et 21). L'AIA est en général défavorable à la synthèse des acides aminés à l'exception de l'arginine, de la lysine et de l'histidine dont les taux augmentent. Sur la base molaire (tableau 21), les acides aminés les plus affectés sont les acides aminés alcools (thréonine et sérine), les acides aminés basiques (lysine et arginine) et les acides aminés hétérocycliques (histidine et proline). GA_3 provoque la chûte du taux de 4 acides aminés seulement et plus spécialement de la thréonine et de la proline ; par contre les autres acides aminés présentent des taux plus importants que les témoins, très élevés en particulier pour l'histidine, l'ornithine, la lysine et l'arginine. Si on compare ces résultats avec ceux de HERICH (1961) sur Cannabis sativa, on constate une similitude d'effet pour l'histidine, l'acide aspartique, la glycine et la leucine. Le tableau 20 montre en outre que GA_3 ne modifie pas les proportions des diacides aminés (acides glutamique et aspartique). Sous l'action de la K, on note une chûte du taux de 13 acides aminés, surtout marquée pour la valine, la thréonine et la proline et une augmentation pour 5 autres, particulièrement évidente pour la méthionine. L'action synergique de la K et de l'adénine se montre particulièrement favorable à la synthèse des acides aminés à l'exception de la thréonine. On remarque en particulier, l'augmentation considérable des taux de l'alanine et de la méthionine.

En définitive, l'influence des phytohormones sur les taux d'azote total et sur ceux des acides aminés se caractérise par une efficacité croissante : acide indolyl-3-acétique < kinétine < acide gibbérellique < kinétine + adénine. Néanmoins cette action peut différer dans le détail pour chaque groupe d'acides aminés :

- GA_3 et le couplage K + adénine sont favorables à la synthèse des acides monoaminés

monocarboxyliques tandis que l'AIA et la K lui sont défavorables ;
- les résultats obtenus avec les acides aminés dicarboxyliques sont semblables à ceux de ce premier groupe ;
- la synthèse des acides aminés alcools est, en général, perturbée par les phytohormones utilisées et plus particulièrement par l'AIA et la K ;
- GA_3 est particulièrement favorable à la synthèse des acides aminés diaminés ;
- parmi les acides aminés soufrés, la synthèse de la cysteine est toujours légèrement inhibée par les substances de croissance utilisées tandis que celle de la méthionine est favorisée par les hormones utilisées à l'exception de l'AIA ;
- GA_3 influence favorablement la synthèse des acides aminés aromatiques tandis que l'AIA et la K lui sont néfastes ;
- enfin, parmi les acides aminés hétérocycliques la synthèse de l'histidine est favorisée par les substances utilisées et plus particulièrement par GA_3 tandis que celle de la proline est freinée.

L'application de substances de croissance aux cultures de Petroglossum nicaeense se traduit donc par un changement important du métabolisme protidique. Chacune des substances employées augmente ou diminue la quantité de chaque acide aminé traduisant ainsi une spécialisation indéniable. Il n'est pas encore possible de dégager des lois générales à partir de ces résultats qui doivent nécessairement être complétés par des recherches similaires sur d'autres espèces. Néanmoins il paraît particulièrement suggestif de souligner les résultats positifs obtenus par l'utilisation combinée de la K et de l'adénine. L'action synergique de ces deux composés a été également mise en évidence par PROVASOLI (1958) sur la croissance et la morphogenèse d'Ulva lactuca. Ces deux substances sont seules à induire la formation d'un thalle normalement constitué à partir d'un îlot isolé pluricellulaire. Ces composés doivent jouer un rôle primordial dans les processus biochimiques qui président à la croissance et à la morphogenèse normales des algues.

IV. - ROLE ECOLOGIQUE

DE VALERA (1940) a montré que les eaux superficielles de la côte Ouest de la Suède favorisent davantage la croissance des algues cultivées en laboratoire que l'eau prélevée à trente mètres de profondeur. Cette différence se manifeste même si l'eau prélevée au fond est enrichie avec des sels nutritifs. HYLIN (1941) a constaté de son côté que l'eau superficielle de la zone à Fucus et à Ascophyllum est plus favorable à la culture des algues que l'eau de surface du large. On est en droit de supposer que l'eau superficielle de la zone

côtière exerce sur les algues en culture une influence bénéfique dûe son seulement à une teneur élevée en substances minérales mais sans doute également à la présence d'autres substances de nature inconnue. SUNESON (1942) confirme les résultats obtenus par DE VALERA et KYLIN et montre, par ailleurs, que l'eau de mer du large est aussi bénéfique que l'eau superficielle du rivage si l'on ajoute à cette dernière une décoction d'algues.

Dans le cadre d'autres recherches diversement orientées, un grand nombre d'auteurs ont tenté de mettre au point des milieux nutritifs synthétiques pouvant remplacer l'eau de mer naturelle pour les cultures en laboratoire (Cf. KUFFERATH 1929). Mais ces milieux synthétiques ne permettaient pas comme l'eau de mer du rivage d'obtenir la croissance des algues en laboratoire.

Comme on l'a vu, c'est à la même époque (1937-1940) que l'on a commencé à mettre en évidence, dans les extraits d'algues, des substances de croissance que les tests biologiques permettaient de rapprocher des auxines trouvées chez les végétaux supérieurs. Parallèlement à ces travaux, de nombreuses expériences ont permis de révéler l'existence de composés de même nature secrétés par les algues dans leur milieu de cultures :

- des activateurs de croissance : LEONIAN (1935), SUNESON (1942 et 1943), LEFEVRE et al. (1948 et 1949), JORGENSEN (1956), JORGENSEN et al. (1961), BENTLEY (1958 et 1959), GALKINA (1964), BERGLUND (1969), TAUBAEV et al. (1970), FRIES (1970), MONAHAN et al. (1970 et 1971) ;
- des inhibiteurs de croissance : HARBER (1917), PRATT et al. (1940), PRATT (1942), LEVRING (1945), DENFFER (1948), LEFEVRE et al. (1948 et 1949), RICE (1954), BUHNEMANN (1955), JORGENSEN (1956), JORGENSEN et al. (1961), GALKINA (1964), TAUTS (1968), HARRIS (1970 et 1971) ;
- des substances toxiques : LEFEVRE et al. (1949 a et b) ;
- des substances morphogenétiques : KOCHER et al. (1970) ;
- des substances actives sur la sporulation : BUHNEMANN (1955), HUSTEDE (1957) ;
- des substances influençant la sexualité : LEONIAN (1935), MAST et al. (1938), COOK et al. (1951), MACHLIS (1953), TSUBO (1961), MULLER-STOLL (1967, 1968 et 1971), DARDEN (1968), DARDEN et al. (1971).

BENTLEY (1958 et 1959) précise que certaines des substances décelées dans les milieux de culture donnent une réaction positive avec les réactifs biochimiques spécifiques des composés indoliques mais les teintes obtenues ne sont pas caractéristiques d'auxines connues. TAUTS et al. (1971 a et b) démontrent, à l'aide des techniques de chromatographie, des tests biologiques et biochimiques et de spectrophotométries, la présence d'AIA et d'un autre composé

indolique non identifié dans le milieu de culture d'une chlorelle thermophile.

A partir de ces observations et de ces expériences, de nombreux chercheurs (KYLIN 1941, BENTLEY 1958 et 1959, BELSER 1963, MAC LACHLAN et al. 1964, FRIES 1970, etc...) ont émis l'hypothèse de l'excrétion éventuelle par les algues de substances de nature hormonale dans la mer ; c'est à la présence de ces produits, que LUCAS (1947) appelle des "ectocrines", que l'eau de mer du rivage devrait ses propriétés bénéfiques pour les cultures d'algues ce qui soulignerait le rôle important des hormones en écologie marine.

Pour vérifier cette hypothèse il était d'abord nécessaire de suivre le comportement des hormones dissoutes artificiellement dans l'eau de mer. En règle générale, l'AIA est rapidement dégradé même si la concentration est élevée et la solution maintenue à l'obscurité ; GA_3 disparaît plus lentement puisqu'il faut attendre un mois dans certains cas pour constater sa complète élimination. Néanmoins, si des substances de ce type sont effectivement présentes dans l'eau de mer, elles doivent l'être à des concentrations excessivement faibles. Les tentatives d'identification devront donc passer par le traitement de quantités considérables d'eau de mer.

HARVEY (1939) a été le premier chercheur à tenter - mais sans succès - d'extraire les substances actives de l'eau de mer par absorption sur carbone. Plus tard BENTLEY (1958, 1959 a et b) a établi, à l'aide de techniques utilisées pour l'identification des auxines des algues, l'existence, dans l'eau de mer, de deux activateurs de croissance qui n'ont pu être identifiés. FRIES (1970) a également mis en évidence un facteur actif de nature inconnue dans l'eau de mer de la zone à Fucus, facteur qui disparaît au bout d'un mois de stockage de l'eau en laboratoire.

Le test "mésocotyle", utilisé pour l'étude des auxines, et appliqué à un extrait de 20 litres d'eau de mer prélevée dans la zone à Cystoseira stricta (figure 49), a montré l'existence d'activateurs et d'inhibiteurs de croissance dans différentes fractions de l'extrait brut. Les tests biologiques utilisés pour l'étude des gibbérellines (figures 50, 51 et 52) ont également révélé la présence d'un nombre important d'activateurs et d'inhibiteurs de croissance dans différentes fractions de l'extrait brut de 100 litres d'eau de mer. Certaines de ces substances présentent un Rf, en chromatographie sur papier, identique à celui de phytohormones connues (tryptophane, AIA, GA_3, GA_1, GA_5, GA_6, GA_8) mais en l'absence de tests biochimiques il est impossible d'affirmer que ces substances existent dans l'eau de mer. Tout ce que l'on peut dire c'est que les tests biologiques indiquent de façon indéniable la présence de composés de nature hormonale

dans la mer et que les concentrations (de l'ordre de 0,05 microgramme par litre) ne permettent pas d'utiliser pour l'instant les tests d'identifications biochimiques des auxines et des gibbérellines. Leur réalisation aurait nécessité le traitement d'au moins 500 litres d'eau de mer à l'aide de 3000 litres d'acétate d'éthyle pour chaque test, quantités trop importantes pour la capacité de traitement de l'appareillage disponible. Quant à l'identification chimique, elle devrait logiquement nécessiter l'extraction de plusieurs dizaines de milliers de litres d'eau de mer.

En ce qui concerne l'origine des produits actifs, on ne peut qu'émettre diverses hypothèses. L'explication la plus séduisante est sans doute celle de l'excrétion d'hormones par les algues marines ; cette théorie se base sur les nombreux résultats positifs obtenus avec les milieux de culture en laboratoire. Mais on peut supposer également que les débris d'origine végétale (algues arrivées au terme de leur développement en particulier) libèrent des produits dans la mer. PALMORK (1963) a identifié divers acides aminés dans l'eau de mer dont le tryptophane libéré des édifices protidiques de la matière organique. Or le tryptophane est un précurseur de l'AIA et certains facteurs physiques et chimiques, voire bactériologiques, peuvent faciliter cette transformation (BERTHELOT et al. 1938). Enfin les travaux de l'école allemande de LIBBERT ont montré que l'on avait trop négligé jusqu'ici le rôle des bactéries, qu'elles soient libres, épi ou endophytes. Il n'est pas interdit de penser que ces organismes pourraient intervenir soit en synthétisant une partie de ces produits soit en transformant des substances inactives prises dans le milieu ambiant. Des phénomènes du même type ont déjà été constatés pour la vitamine B^{12} (ERICSON et al. 1953, TSUKIDATE 1970).

Enfin lorsque l'identité exacte de ces substances sera connue et l'origine de leur formation élucidée, il restera à déterminer leur rôle exact sur la végétation marine. Ces études apporteront peut être une lumière nouvelle aux problèmes écobiocénotiques tels que la répartition, la sélection, l'adaptation, la concurrence, la succession, la cohabitation, la dépendance, l'épiphytisme, etc...

CONCLUSION

Les difficultés d'analyse des phytohormones endogènes découlent de leur très faible concentration dans les tissus, de leur dispersion dans une masse considérable de produits organiques divers, de leur sensibilité à la lumière et à la chaleur et de réactions multiples qui se produisent au contact de substances organiques variées.

Les techniques utilisées dans ce travail permettent d'augmenter rapidement la concentration des hormones contenues dans l'extrait brut, d'éviter leur transformation par voie physique, chimique ou biochimique et d'éliminer les substances gênantes pour la réalisation des tests d'identification. Elles comportent essentiellement une lyophilisation, un traitement rapide par des solvants sélectifs, une filtration moléculaire sur gel de dextranes, une chromatographie sur papier, sur couche mince et sur colonne, des tests physiques, chimiques et biologiques d'identification. En ce qui concerne les cytokinines, les méthodes ont été complétées par des techniques d'absorption sur charbon actif et de précipitation ionique.

Les analyses ont permis de révéler l'existence de substances de nature hormonale dans le thalle de nombreuses espèces d'algues appartenant à des unités taxinomiques, écologiques, anatomiques et physiologiques variées et à des moments différents de leur développement. Des localisations histologiques ont été mises en évidence dans certains cas comme par exemple la région apicale des frondes de Cystoseira stricta ou la paroi vésiculaire du thalle de Botryocladia botryoïdes qui présentent une concentration hormonale beaucoup plus élevée que le reste du thalle. Ces substances, souvent identiques ou semblables aux phytohormones des végétaux supérieurs, appartiennent, pour la majorité d'entre elles, à trois groupes chimiques différents : auxines, gibbérellines et cytokinines.

Il convient de souligner la présence d'acide indolyl-3-acétique dans les extraits de nombreuses algues. Cette auxine, largement répandue chez les végétaux supérieurs où elle joue un rôle important dans la régulation des phénomènes fondamentaux de la croissance et du développement, se trouve donc également présente dans le thalle de ces organismes à structure anatomique beaucoup plus simple. L'acide indolyl-3-acétique a été décelé récemment aussi chez les Ptéridophytes, les Bryophytes, les Hépatiques et les Champignons, ce qui démontre que la croissance des végétaux emprunte des voies biochimiques communes quel que soit le degré d'organisation de la plante considérée. Le fait d'avoir décelé également la présence d'autres composés indoliques tels que le tryptophane et l'indolyl-acétonitrile, considérés comme des précurseurs directs de l'AIA chez les Spermaphytes, renforce cette idée. Il a d'ailleurs été possible, grace aux résultats complémentaires obtenus par d'autres chercheurs, d'esquisser un schéma général

de la biogenèse de l'AIA présentant de nombreux points de similitude avec celle des autres végétaux.

Les analyses ont également révélé, chez les algues, l'existence de substances aux propriétés analogues à celles des gibbérellines identifiées chez les végétaux supérieurs et les champignons. Certains de ces produits présentent le même Rf en chromatographie sur papier et sur couche mince, le même volume d'élution dans la perméation sur gel de dextrane, la même fluorescence avec le test biochimique et le même comportement avec les tests biologiques spécifiques que les gibbérellines GA_1, GA_3, GA_4, GA_7 et GA_9. D'autres substances, caractérisées par des propriétés différentes de celles des gibbérellines de référence, ont également été décelées. Les unes se signalent par une réaction positive - mais non caractéristique - avec le test biochimique, les autres par une réaction négative. Leur identification chimique aurait nécessité le traitement d'une quantité d'algues trop importante pour être compatible avec l'appareillage disponible.

En ce qui concerne les cytokinines, dont l'existence a été démontrée chez plus de 50 espèces de végétaux supérieurs, les analyses ont révélé qu'elles sont également présentes chez les algues. Des essais d'identification ont montré que ces substances, particulièrement actives sur le test moelle de Tabac, ne peuvent pas être assimilées à la zéatine ou à la 6-benzyladénine bien que leur noyau soit probablement de nature purique comme l'indique le réactif au bromophénol.

D'autres composés ont également été décelés grace à leur activité physiologique, mais leur identité chimique demeure encore inconnue. Pour un petit nombre d'entre eux, des expériences complémentaires pourraient peut être permettre de révéler l'existence de substances hormonales d'un type nouveau. C'est le cas, par exemple, des "hormones liées" révélées par l'hydrolyse alcaline pour les auxines indoliques et par la phase butanol secondaire dans le cas des gibbérellines.

Des expériences de traitement <u>in situ</u>, rendues possibles par l'utilisation du scaphandre autonome, et de cultures en laboratoire à l'aide d'une petite unité phytotronique, ont montré que les phytohormones interviennent dans la régulation physiologique des algues au cours des différentes phases de leur développement. Elles participent, en effet, à la régulation de la croissance et du développement en intervenant non seulement sur les mécanismes de l'auxèse et de la mérèse mais également sur ceux de la morphogenèse et de l'organogenèse. Elles touchent, par corollaire, des grandes fonctions métaboliques telles que la respiration, la photosynthèse et la synthèse des molécules organiques comme en témoignent les différences enregistrées en ce qui concerne les propriétés cellulaires,

les échanges gazeux et la composition chimique des algues soumises aux tests. Leur influence s'exerce également, dans certains cas, sur les processus de la perpétuation des espèces qu'il s'agisse de reproduction sexuée ou de multiplication végétative.

L'action des hormones s'est parfois révélée particulièrement significative, par exemple sur la croissance de certaines algues qui peut être augmentée de 100 % par rapport aux témoins ou sur la morphogenèse et la dominance apicale dont les modalités peuvent être parfois radicalement transformées. Il convient également de noter l'action de la kinétine sur les chloroplastes qu'elle protège et sur la photosynthèse qu'elle accélère et de remarquer l'influence favorable de l'acide gibbérellique et du couplage kinétine-adénine sur la synthèse des acides aminés protidiques. Par ailleurs, les tests biologiques des auxines et des gibbérellines ont révélé l'existence d'activateurs et d'inhibiteurs de croissance dans l'eau de mer prélevée au niveau des peuplements d'algues du rivage. Ces substances demeurent chimiquement inconnues ; il ne m'a pas été possible de réaliser des essais d'identification physico-chimiques qui auraient nécessité les traitements de plusieurs milliers de litres d'eau de mer. Néanmoins, la présence dans la mer d'activateurs ou d'inhibiteurs de croissance apporte un élément nouveau particulièrement intéressant qu'il conviendra d'exploiter dans les études écobiocénotiques futures.

Tels sont les faits les plus marquants qu'il est possible de dégager de cette étude qui tient compte également des résultats obtenus par d'autres chercheurs ayant oeuvré dans le même domaine.

Sans doute était-il impossible dans ce travail de résumer d'une manière exhaustive les connaissances acquises sur les hormones des algues, malgré l'apport bibliographique particulièrement abondant. Mais dans l'état actuel de nos connaissances, il est prouvé que le thalle des algues renferme des substances de même nature que les auxines, les gibbérellines et les cytokinines des végétaux supérieurs. Il est également démontré que ces substances interviennent dans la régulation des mécanismes fondamentaux de la croissance, du développement et de la reproduction de ces organismes. Néanmoins, comme pour les autres végétaux, bien des points demeurent obscurs mais les algues, en tant que végétaux d'organisation relativement simple représentent un matériel d'étude particulièrement intéressant pour les recherches futures. Un moyen de simplification efficace consiste à se placer non pas au niveau de l'individu mais à l'échelle tissulaire ou cellulaire. L'intérêt majeur des cultures de tissus ou de cellules isolés des thalles réside dans le fait que l'on s'adresse à des "structures" libérées des corrélations organiques et qui peuvent par conséquent exprimer leurs potentialités propres.

L'étude des hormones des algues n'est pas encore sortie du domaine de la recherche fondamentale mais, connaissant les innombrables services rendus à l'agriculture par l'utilisation des auxines, il est facile d'imaginer, pour les algues, les applications pratiques que l'on pourrait tirer de ce travail.

Les expériences ont révélé qu'une des propriétés principales des phytohormones était d'accélérer la croissance des thalles parfois dans des proportions considérables ; ce pouvoir peut être utilisé dans tous les cas où se pose un problème de rendement et notamment dans le domaine nutritionel. Les algues constituent un apport important à l'alimentation de nombreuses populations d'Extrême-Orient et en particulier des habitants des archipels qui bordent la mer de Chine, la mer du Japon et ceux de l'Indonésie. L'enrichissement phytohormonal de l'eau de mer baignant les peuplements exploités permettrait certainement de stimuler la croissance des thalles mais cette pratique paraît limitée en raison de la dispersion rapide des produits utilisés. Un rendement non négligeable peut par contre être espéré lorsque l'exploitation est basé non sur la cueillette mais sur la culture des algues. C'est le cas de nombreuses espèces notamment de Porphyra tenera dont la culture est en voie de perfectionnement au Japon. Des efforts sont en effet entrepris depuis quelques années pour améliorer les rendements par addition d'azote sous forme de sels ammoniacaux ou d'urée. Or les expériences réalisées avec Porphyra leucosticta et P. tenera ont montré que les gibbérellines utilisées à dose convenable, ont le pouvoir d'accélérer sensiblement la croissance de ces Rhodophycées ; leur application systématique permettrait par conséquent d'augmenter encore le rendement. La kinétine qui protège les pigments et intensifie la photosynthèse pourrait également être utilisée dans ce sens. Cette pratique peut aussi s'appliquer aux Spirulines pour lesquelles des essais de culture massale ont été tentés ainsi qu'aux Chlorelles qui font partie de certains programmes de vols spatiaux en tant que nourriture de base et source d'oxygène et enfin aux expériences d'enrichissement des lagunes littorales et des fjords. Des problèmes de rendement de même nature se posent également pour les autres formes d'utilisation des algues qu'il s'agisse d'exploitation industrielle (alginates, agar, carragheen, funori, brome, cellulose, iode, etc...), d'exploitation agricole (engrais(1),

---

(1) Dans le domaine des applications agricoles, il convient de mentionner l'utilisation, depuis quelques années, d'engrais naturels à base d'algues vivantes. J'ai eu l'occasion d'analyser de la poudre CALMAGOL fabriquée avec des thalles vivants de Lithothamniun calcareum broyés finement et j'ai pu constater que cet engrais contenait les mêmes phytohormones que l'algue vivante - de l'acide indolyl-3-acétique en particulier - qui confèrent certainement à cet engrais une partie de ses propriétés.

nourriture des animaux domestiques, aquaculture, etc...) ou d'exploitation médicale (thermalisme marin, antibiotiques, algine, anticoagulants, etc...).

Les expériences ont révélé par ailleurs que les hormones interviennent sur la morphogenèse et l'organogenèse des thalles. Il y a peut être là un moyen de favoriser le développement sélectif de certaines parties du thalle mieux adaptées à une exploitation rentable à l'image de ce qui s'est fait par la sélection millénaire chez les plantes cultivées.

Les expériences ont également montré que l'on peut orienter la composition chimique des algues. On a constaté par exemple que le taux des acides aminés de Petroglossum nicaeense peut être augmenté par addition d'acide gibbérellique ou d'un mélange de kinétine et d'adénine au milieu de culture. On peut espérer obtenir de cette façon des algues de plus haute valeur nutritive en augmentant les taux de protéines, de vitamines, de glucides, etc...

Les expériences réalisées avec le 2.4-D ont montré que cet acide exerçait souvent une action néfaste sur le développement des algues et qu'il agissait parfois sur certaines espèces comme un véritable "herbicide". On peut mettre à profit cette propriété pour détruire localement des espèces encombrantes ou nuisibles comme par exemple celles qui se développent dans les tuyaux et les vannes des usines implantées au bord de mer. Ces applications peuvent d'ailleurs ouvrir des horizons encore plus étendus. De même qu'en agriculture on utilise des mélanges judicieusement dosés de substances de synthèse (2.4-D, 3.4.5-T, etc...) permettant d'éliminer les"mauvaises herbes"des cultures, il est possible de mettre au point de la même façon des solutions convenables pour éliminer sélectivement les "mauvaises algues". Des problèmes de cet ordre se posent déjà en "agriculture sous-marine". C'est le cas par exemple des cultures de Laminaires au Japon, souvent contrariées par le développement d'algues encroûtantes qui font baisser le rendement des exploitations.

Il est certain que la plupart de ces applications sont délicates à réaliser et que les traitements hormonaux devront faire l'objet de nombreux essais préalables. On a vu en effet que l'influence des phytohormones peut s'avérer profondément différente selon les conditions du milieu, l'espèce considérée, la phase de son développement, le type et la concentration des hormones employées.

B I B L I O G R A P H I E

(arrêtée au 1er janvier 1972)

ABBAS A. et GODWARD M.B.E., 1965. - Cytological effects of gibberellic acid (Gibberellin A_3) on Draparnaldia plumosa (Vauch.) Ag. Curr. Sci. India, 34, 24 : 699.

ACCORINTI J., 1962. - Effects of indoleacetic and gibberellic acids on the growth of Scenedesmus obliquus. Rev. Mus., La Plata, 9 : 101-124.

AHMAD M.R., 1971. - Short and long term effects of indole-3-acetic acid on the growth of Nostoc muscorum. Z. Pflanzenphysiol. (Berl.), 64, 2 : 175-177.

AHMAD M.R. et WINTER A., 1968 a. - Studies on the hormonal relationships of algae in pure culture. I. - The effect of indole-3-acetic acid on the growth of blue-green and green algae. Planta (Berl.), 78, 3 : 277-286.

AHMAD M.R. et WINTER A., 1968 b. - Studies on the hormonal relationships of algae in pure culture. II. - The effect of potential precursors of indole-3-acetic acid on the growth of several freshwater blue-green algae. Planta (Berl.), 81, 1 : 16-27.

AHMAD M.R. et WINTER A., 1969. - Studies on the hormonal relationships of algae in pure culture. III. - Tryptamine is an intermediate in the conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by the blue-green alga Chlorogloea fritschii. Planta (Berl.), 88, 1 : 61-66.

AHMAD M.R. et WINTER A., 1970 a. - Studies on the hormonal relationships of algae in pure culture. IV. - The metabolism of indole-2-C^{14} by blue green alga Chlorogloea fritschii. Z. Pflanzenphysiol. (Berl.), 62, 4 : 393-397.

AHMAD M.R. et WINTER A., 1970 b. - The effect of weak auxins on the growth of blue-green algae. Hydrobiologia, Pays Bas, 36, 2 : 305-316.

ALBAUM H.G., KAISER S. et NESTLER H.A., 1937. - The relation of hydrogen-ion concentration to the penetration of 3-indole acetic acid into Nitella cells. Amer. J. Bot., 24 : 513-518.

ALBERT L. et DAVIDSON F.F., 1959. - The effects of gibberellic acid on Microcystis aeruginosa. Texas J. Sc., 11, 3 : 358-365.

ALGEUS S., 1946. - Untersuchungen über die Ernährungsphysiologie der Chlorophyceen. Mit besonderer Berücksichtigung von Indolylessigsäure, Ascorbinsäure und Aneurin. Sonderabdruck aus Botaniska Notiser, Lund : 129-278.

ALLEN M.B., 1956. - Excretion of organic compounds by Chlamydomonas. Arch. Mikrobiol., 24 : 163-168.

AMMANN E.C.B. et LYNCH V.H., 1964 a. - Purine metabolism by unicellular algae. I. - Chromatographic detection of some purines, pyrimidines and imidazoles by their mercuric complexes. Anal. Biochem., 7, 4 : 387-392.

AMMANN E.C.B. et LYNCH V.H., 1964 b. - Purine metabolism by unicellular algae. II. - Adenine, hypoxanthine and xanthine degradation by Chlorella pyrenoidosa. Bioch. Biophys. Acta, Pays-Bas, 87, 3 : 370-379.

ARMSTRONG D.J., BURROWS W.J., EVANS P.K. et SKOOG F., 1969. - Isolation of cytokinins from RNA. Bioch. Biophys. Res. Comm., 37, 3 : 451-456.

ASAUL Z.I., 1967. - En Ukrainien : "Sur l'influence de la substance de croissance du pétrole et de l'autolysat de levures sur la croissance de la Chlorelle". Ukrajin. Bot. Zh., 24, 6 : 70-74.

AUGIER H., 1964. - Contribution à l'étude de la croissance du coléoptile de blé. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 24 : 177-193.

AUGIER H., 1965. - Les substances de croissance chez la Rhodophycée Botryocladia botryoïdes. C.R. Acad. Sc., Paris, 260 : 2304-2306.

AUGIER H., 1965. - Contribution à l'étude des facteurs de croissance des algues rouges. Bull. Inst. Ocean., Monaco, 65, 1341 : 18 pp.

AUGIER H., 1968. - Un microphycotron de laboratoire. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 28 : 149-168.

AUGIER H., 1969. - Un pistolet de scellement sous-marin. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 29 : 25-47.

AUGIER H., 1970. - La lyophilisation, son utilisation en phycologie. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 30 : 229-251.

AUGIER H., 1970 a. - Présence de la β-indolyl-acétonitrile et de la β-acétate d'éthyle chez l'algue brune Halopteris scoparia. C.R. Acad. Sc., Paris, 270 : 3311-3314.

AUGIER H., 1970 b. - L'analyse phytohormonale par couplage de la filtration moléculaire sur gel et des méthodes chromatographiques et biochromatographiques. Application préliminaire à l'étude des substances de croissance des algues. Téthys, 2, 4 : 763-782.

AUGIER H., 1971 a. - Contribution à l'identification des hormones de croissance de l'algue brune Petalonia fascia (Muller) Kuntze. Bull. Soc. Phycol. de Fr., 16 : 70-75.

AUGIER H., 1971 b. - Phytotrons et phytotronique, la bioclimatologie expérimentale. C.R.D.P. Edit., Marseille : 59 pp.

AUGIER H., 1971 c. - Contribution à l'étude de la répartition des phytohormones dans le thalle de la Rhodophycée Botryocladia botryoïdes (Wulf.) J. Feldm. Téthys, 3, 1 : 183-188.

AUGIER H., 1972 a. - Contribution à l'étude des phytohormones de l'algue rouge Lithothamniun calcareum et de ses dérivés utilisés en agriculture. C.R. Acad. Sc., Paris, 274 : 1810-1813.

AUGIER H., 1972 b. - Le spitmarin : un outil de scellement pour les travaux sub-aquatiques. Bull. Soc. Sc. Nat. Arch., Toulon (Sous presse).

AUGIER H., 1972 c. - Contribution à l'étude des phytohormones des algues. Les manifestations biologiques de nature hormonale. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 32 (sous presse).

AUGIER H., 1972 d. - Phytotronique et phycologie. Dans "Physiologie des algues en rapport avec les conditions de culture". Colloq. Soc. Phycol. de Fr., Paris 28 février 1972 (sous presse).

AUGIER H. - Contribution à l'étude de la répartition des phytohormones dans le thalle de l'algue rouge Botryocladia botryoïdes (Wulf.) J. Feldm. Colloque de la C.I.E.S.M., Rome décembre 1970 (sous presse au Bulletin).

AUGIER H. et BOUDOURESQUE C.F., 1967. - Végétation marine de l'île de Port-Cros (Parc National). I. - La baie de la Palud. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 27 : 93-124.

AUGIER H. et BOUDOURESQUE C.F., 1968. - Végétation marine de l'île de Port-Cros (Parc National). II. - Les peuplements sciaphiles superficiels. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 28 : 149-168.

AUGIER H. et BOUDOURESQUE C.F., 1969. - L'île de Port-Cros : Bilan et enjeu d'un parc national. Bull. Soc. Sc. nat., arch., Toulon, 21 : 110-133.

AUGIER H. et BOUDOURESQUE C.F., 1971. - Notions d'écobiocénotique marine, excursions en Méditerranée. C.R.D.P. Edit., Marseille : 109 pp.

AUGIER H., BOUDOURESQUE C.F. et LABOREL J., 1971. - Végétation marine de l'île de Port-Cros (Parc National). VII. - Les peuplements sciaphiles profonds sur substrat dur. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 31 : 153-183.

AUGIER H. et HARADA H., 1972 a. - Présence d'hormones de type cytokinine dans le thalle des algues marines. C.R. Acad. Sc., Paris (sous presse).

AUGIER H. et HARADA H., 1972 b. - Contribution à l'étude des cytokinines endogènes des algues. Téthys (sous presse).

AUGIER H. et PELLEGRINI M., 1972 a. - Influence de quelques phytohormones sur les teneurs en azote total et en acides aminés protidiques de l'algue rouge Petroglossum nicaeense (Duby) Schotter. Dans : "Physiologie des algues en rapport avec les conditions de culture". Coll. Soc. Phycol. de Fr., Paris 28 février 1972 (sous presse).

AUGIER H. et PELLEGRINI M., 1972 b. - Variations des teneurs en azote total et en acides aminés protidiques de la Rhodophycée Petroglossum nicaeense (Duby) Schotter sous l'action de quelques phytohormones. Téthys (sous presse).

BACH M.K., 1961. - Mechanism of stimulation of respiration by purines. I. - Inhibitor studies. Pl. Physiol., 36, 3 : 317-322.

BACH M.K. et FELLIG J., 1959. - The comparative effect of inhibitors on the respiration induced by purines and other compounds in nitrogen starved cells of Chlorella vulgaris. Pl. Physiol., 34 (Suppl.) : 12.

BACH M.K. et FELLIG J., 1960. - Stimulation of the respiration of Chlorella vulgaris by purines and purines analogues. Pl. Physiol., 35, 1 : 36-44.

BACH M.K. et FELLIG J., 1961. - Ubiquity of stimulation of endogenous respiration by purines and purines analogs. Pl. Physiol., 36, 1 : 85-88.

BACH M.K., FELLIG J., STREET H.E., GRIFFITHS D.J., THRESHER C.L. et OWENS M., 1958. - Auxins and their effect on the growth of unicellular algae. Nature, 182 : 1359-1362.

BANERJEE S.N. et HORSLEY R.J., 1969. - Gibberellin like substances in Oedogonium cardiacum. Phyton, 26, 2 : 195-200.

BARTHE P., 1971. - Recherche de substances de type cytokinine synthétisées par Nectria galligena Bres. var. major Wr., en culture pure. C.R. Acad. Sc., D, Fr., 272, 23 : 2881-2883.

BAUDRIMONT R., 1961. - Influence de divers milieux de culture sur le développement de quelques Ulvacées. Le Botaniste, 44, 1-6 : 77-192.

BELSER W.L., 1963. - Bioassay of trace substances. Dans : The sea, vol. 2, New-York Intersc. Publ. : 220-231.

BELTRA R., BALLESTEROS A.M. et LAHOZ R., 1969. - Estudios sobre la produccion de sustancias de crecimento por Nectria galligena. Microbiol. Esp., 22, 1 : 41-53.

BENDANA F.E. et FRIED M., 1967. - Stimulatory effects of gibberellins on the growth of Chlorella pyrenoidosa. Life Sc., G.B., 6, 10, 2 : 1023-1033.

BENNETT M.C., 1955. - The influence of the cell membrane on some toxicity effects of growth substances in Nitella. J. Exper. Bot., 6 : 276.

BENTLEY J.A., 1958. - Rôle of plant hormones in algal metabolism and ecology. Nature, 181 : 1499-1501.

BENTLEY J.A., 1959 a. - Plant hormones in marine phytoplankton, zooplankton and sea water. Inst. Oceanogr. Congr. Prep. : 910-912.

BENTLEY J., 1959 b. - Auxin like substances in algae. Ann. Rep. Challenger Soc., 3, 11 : 20.

BENTLEY J., 1960. - Plant hormones in marine phytoplankton, zooplankton and sea water. J. Mar. Biol. Ass. U.K., 39, 3 : 433-444.

BENTLEY-MOWAT J.A., 1967 a. - Do plant growth - substances affect the development and ecology of unicellular algae ? Wissensch. Z. Univ. Rostock, math. natur. Wissensch. Reihe, 16, 4-5 : 445-449.

BENTLEY-MOWAT J.A., 1967 b. - Do plant growth - substances affect the development and ecology of unicellular algae ? Dans : "Wachstumsregulatoren Pflanzen Internation. Vortragstagung. Rostock Kühlungsborn, 1966". Jena Fischer Verlag.

BENTLEY-MOWAT J.A. et REID S.M., 1967. - Effect of gibberellins, kinetin and other factors on the growth of unicellular marine algae in culture. Botanica Marina, 12, 1-4 : 185-199.

BENTLEY-MOWAT J.A. et REID S.M., 1968. - Investigation of the radish leaf bioassay for kinetins and demonstration of kinetin - like substances in algae. Ann. Bot. N.S., 32, 125 : 23-32.

BERGLUND H., 1969. - Stimulation of growth of two marine green algae by organic substances excreted by Enteromorpha linza in unialgal and axenic cultures. Physiol. Plantar., 22 : 1069-1073.

BERLAND B., 1966. - Contribution à l'étude des cultures de Diatomées marines. Rec. Trav. St. mar. Endoume, 40, 56 : 1-82.

BERTAGNOLLI B.L. et NADAKAVUKAREN M.J., 1970. - Effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the fine structure of Chlorella pyrenoidosa Chick. J. Phycol. U.S.A., 6, 1 : 98-100.

BERTHELOT A. et AMOUREUX G., 1938. - Sur la formation de l'acide indole-3-acétique par l'action du rayonnement ultraviolet sur le tryptophane. C.R. Acad. Sci., 206 : 699.

BERTINO S., 1968. - Les fonds sous-marins. Encyclopédie Planète, Planète Edit. : 253 pp.

BIGOT C., 1969. - Les cytokinines. Cours pour la session de recyclage en physiologie du développement. Ecole Sup. Hort. Vers. et Lab. Physiol. pluricell. C.N.R.S., Gif-sur-Yvette : 27 pp.

BONIN D.J., 1969. - Influence de différents facteurs écologiques sur la croissance de la Diatomée marine Choetoceros affinis Lander en culture. Téthys, Fr., 1 : 173-237.

BONOTTO S., PUISEUX-DAO S., KIRCHMANN R. et BRACHET J., 1971. - Faits et hypothèses sur le contrôle de l'alternance morphogenétique : croissance végétative - différenciation de l'appareil reproducteur chez les Acetabularia mediterranea Lamouroux, A. crenulata Lamouroux et Halicoryne spicata (Kützing) Solmslanbach. C.R. Acad. Sci., D, Paris, 272, 3 : 392-395.

BOUDOURESQUE C.F., 1970. - Recherches de bionomie analytique, structurale et expérimentale sur les peuplements benthiques sciaphiles de Méditerranée Occidentale (fraction algale). Th. Doct. Et. Marseille : 624 pp.

BRACHET J., 1959. - New observations on biochemical interactions between nucleus and cytoplasm in Amoeba and Acetabularia. J. Exp. Cell. Res., Suppl., 6 : 78-96.

BRACHET J., 1968. - Synthesis of macromolecules and morphogenesis in Acetabularia. Dans : "Current topics in developmental biology". Academic Press Edit., New-York, London : 1-36.

BRACHET J. et BONOTTO S., 1970. - Biology of Acetabularia. Academic Press. New-York, London : 300 pp.

BRANHAM J.M. et METZ C.B., 1960. - Nature and action of the fertilization inhibitor from Fucus. Biol. Bull., 119 : 305.

BRANNON M.A., 1937. - Algae and growth - substances. Science , 86 : 353-354.

BRANNON M.A. et BARTSCH A.F., 1939. - Influence of growth substances on growth and cell division in green algae. Amer. J. Bot., 26 : 271-279.

BRANNON M.A. et SELL H.M., 1945. - The effect of IAA on dry weight of Chlorella pyrenoidosa. Amer. J. Bot., 32 : 257-258.

BRIAN P.W., 1963. - Growth regulating hormones in lower plants. Sci. Progr., 51 : 226-238.

BRIAN P.W., HEMMING H.G. et LOWE D., 1964. - Comparative potency of nine gibberellins. Ann. Bot., N.S., 28, 111 : 369-389.

BUHNEMANN F., 1955. - Untersuchungen über einen Sporulations und Wachstumshemmstoff in Oedogonium Kulturen. Arch. Mikrobiol., 23 : 14-27.

BUI-DANG-HA D., 1970. - Recherches sur les méthodes de purification des cytokinines naturelles. Isolement d'une cytokinine à partir de la racine d'endive (Cichorium intybus L.). Th. Doct. Etat Paris, C.N.R.S. AO 4521 : 67 pp.

BUNT J.S., 1961 a. - Nitrogen - fixing blue-green algae in Australian rice oils. Nature, G.B., 192 : 479-480.

BUNT J.S., 1961 b. - Blue-green algae. Nature, 192 : 1274-1276.

BURDETT R.M. et TURNBULL L.P., 1960. - The effect of gibberellic acid on the growth of Chlamydomonas moewusii Gerl. Brit. Phyc. Bull., 2, 1 : 13.

BURROWS E.M., 1947. - A biological study of Ascophyllum nodosum. Ph. D. Thesis, London University.

BURROWS E.M., 1956. - Growth control in the Fucacea. Abstr. Intern. 2nd Sympos., Seaweed Symposium, Trondheim 1955 : 163-170.

BURROWS E.M., 1959. - Growth form and environment in Enteromorpha. J. Lim. Soc. London Bot., 56, 366 : 204-206.

CAVELL B.D., MAC MILLAN J., PRYCE R.J. et SHEPPARD A.C., 1967. - Thin layer and gas liquid chromatography of the gibberellins, direct identification of the gibberellins in a crude plant extract by gas liquid chromatography. Phytochemistry, 6 : 867-874.

CHAMPAGNAT R., OZENDA P. et BAILLAUD L., 1969. - Biologie végétale. III. - Croissance, morphogenèse et reproduction. Masson Edit., Paris : 510 pp.

CHIRKOVA L.I., PIKALOV A.V., KISELEVA E.V., BETINA M.I., KHRISTOJUBOVA N.B., NIKORO Z.S. et SANDAKHCHIEV L.S., 1970. - En russe : "Localisation intra-cellulaire des facteurs morphogenétiques chez Acetabularia mediterranea". Ontogenez., S.S.S.R., 1, 1 : 42-53.

CIFERRI O. et BERTOSSI F., 1957. - Acido gibberellico e crescita di alcuni microorganismi. Bull. Soc. Ital. Biol. Sper., 38 : 114-116.

COHEN P., POWERS J.J. et PRATT D.E., 1963. - Industrial food wastes as substrates for the growth of algae. Bot. mar., Allem., 4, 1-2 : 163-174.

COLLET G., DUBOUCHET J. et PILET P.E., 1964. - Etude par chromatographie sur couche mince de quelques composés indoliques. Physiol. vég., 2, 2 : 157-194.

CONRAD H.M., 1965. - Studies on the effects of the plant growth substances on algae. Bioch. Asbtr., 65 : 6902.

CONRAD H.M. et SALTMAN P., 1961. - Interaction of gibberellic acid and allyltrimethylammonium bromide upon growth of Ulothrix. Plant Physiol., 36, 5 : 685-687.

CONRAD H.M. et SALTMAN P., 1962. - Growth substances. Dans : "Physiology and biochemistry of algae". R.A. LEWIN, Academic Press Edit., London, New-York : 663-669.

CONRAD H.M., SALTMAN P. et EPPLEY R., 1959. - Effects of auxin and gibberellic acid on growth of Ulothrix. Nature, 184 : 556-557.

CONRAD K. et CONRAD J., 1968. - Ueber geschlechgebundene Uterschiede im Auxingehalt und im vergilben der Rezeptekeln von Fucus vesiculosus. Flora, A, Dtsch., 159, 1 : 77-81.

CONTRACTOR J.F., 1966. - A rapid quantitative method for the estimation of 5-hydroxyindoleacetic in human urine. Bioch. Pharmacol., G.B., 15, 2 : 1701-1706.

COOK A.H. et ELVIDGE J.A., 1951. - Fertilization in the Fucaceae : investigations on the nature of the chemotactic substance produced by eggs of Fucus serratus and F. vesiculosus. Proc. Roval Soc. London, 138 : 97-114.

COSSON J., 1965. - Etude d'une population de Laminaria digitata (Biométrie, croissance, régénération). Bull. Soc. Lin. Normandie, 8, 2 : 246-281.

COTTON A.D., 1926. - Sea-weeds, pp. 186-193. Dans : "TAUSLEY A.G., CHIPP T.F., ed. Aims and method in the study of vegetation". London : 256 pp.

COULSON C.B., 1953 a. - Aminoacids of marine algae. Chemy Ind. : 971-972.

COULSON C.B., 1953 b. - Proteins of marine algae. Chemy Ind. : 997-998.

CRAIG L., GREGORY J.D. et HAUSMAN W., 1950. - Versetile laboratory concentration device. Analyt. Chem., 22 : 1462.

CRAIGIE J.S. et MAC LACHLAN J., 1964. - Excretion of colored ultraviolet - absorbing substances by marine algae. Canad. J. Bot., 42 : 23-33.

CROZIER A., KUO L.C., DURLEY R.C. et PHARIS R.P., 1970. - The biological activities of 26 gibberellins in nine plant bioassays. Canad. J. Bot., 48, 5 : 867-877.

DAGYS J., JUDOKAITE I., DAGYTE A., KASTAUNAITE M. et NACICKAITE A., 1964. - En ukrainien : "Effet des extraits d'algues de la mer Baltique sur la croissance et le rendement des végétaux supérieurs." List. T.S.R., Aukstuju Mokyklu Mokslo Darb., Biol., 4 : 127-137.

DANGEARD P.M., 1957. - Faculté de régénération et multiplication végétative chez les Enteromorphes. C.R. Acad. Sc., Paris, 244 : 2454-2457.

DAO S., 1954. - Action de l'acide indol acétique sur l'Acetabularia mediterranea Lamour. en culture. C.R. Acad. Sc., Paris, 238 : 2340-2341.

DAO S., 1956. - A propos de l'action du tryptophane sur l'Acetabularia mediterranea. C.R. Acad. Sc., Paris, 243 : 1552-1554.

DARDEN W.H., 1968. - Production of a male - inducing hormone by a parthenosporic Volvox aureus. J. Protozool., U.S.A., 15, 3 : 412-414.

DARDEN W.H. et SAYERS E.R., 1971. - The effect of selected chemical and physical agents on the male-inducing substance from Volvox aureus M.S. Microbios, G.B., 3, 12 : 209-214.

DARSIE M.L., 1939. - Certain aspects of phototropisms, growth and polarity in the single celled marine alga Bryopsis. Thesis, Stanford University, California.

DAVIDSON F.F., 1950. - The effects of auxins on the growth of marine algae. Amer. J. Bot., 37 : 502-510.

DAVIDSON F.F., 1952. - Effects of growth substances on Rhizoclonium hieroglyphicum (Siphonocladale). Amer. J. Bot., 39 : 700-704.

DAVIS C.C., 1964. - A preliminary report on the effects of indoleacetic acid upon the growth of planktonic algae under semifield conditions. Ass. intern. Limnol. theor. appl. Trav. Allem., 15, 2 : 811-816.

DENFFER D.V., 1948. - Uber einen Wachstumshemmstoff in alternden Diatomeenkulturen. Biol. Zbl., 67 : 7-13.

DENFFER D.V. et HUSTEDE H., 1955. - Wuchsstoffbedingte Umstimmung von der sexuellen zur vegetativen Entwicklung bei Vaucheria sessilis. Flora, 142, 3 : 489-492.

DETERMAN H., 1969. - Chromatographie sur gel. Filtration, perméation, tamisage moléculaire. Masson Edit., Paris : 193 pp.

DE VALERA M., 1940. - Note on the difference in growth of Enteromorpha species in various culture media. Kungl. Fysiografiska Sällskapets i Lund Eörhandlingar, 10, 5 : 52-58.

DE VITRY F., 1962. - Action de métabolites et d'antimétabolites sur la croissance et la morphogenèse d'Acetabularia mediterranea. Protoplasma, 55 : 313-319.

DOSTAL R., 1945. - Morphogenetic studies on Caulerpa prolifera. Bull. Acad. Tcheq. Sci., 46 : 133-149.

DU BUY H.G. et OLSON R.A., 1937. - The presence of growth regulators during the early development of Fucus. Amer. J. Bot., 24 : 609-611.

DYCUS A.M., 1962. - An investigation of response of algae to the interaction of growth regulators, inorganic salts and organic nutrients. Pl. Physiol., 37 (suppl.) : 67.

ELLIOT A.M., 1938. - The influence of certain plant hormones on growth of Protozoa. Physiol. Zool., 11 : 31.

ELLIOT A.M., 1939. - Effects of phytohormones on Euglena in relation to light. Trans. Amer. Microscop. Soc., 58 : 385-388.

ERICKSON L.C., WEDDING R.T. et BRANNAMAN B.L., 1955. - Influence of pH on 2.4-dichlorophenoxyacetic and acetic acid activity in Chlorella. Plant Physiol., 30, 69-70.

ERICSON L.E. et LEWIS L., 1953. - On the occurence of B12 factors in marine algae. Ark. Kemi., 6 : 427-442.

ERMOLAEVA L.M. et FEDOROV V.G., 1964. - En russe : Influence de la gibbérelline sur le développement des algues. Nauchn. Dokl. Vyssh. Shk., biol. Nauki, S.S.S.R., 1 : 133-135.

ERNST A., 1931. - Untersuchungen an Tropischen Caulerpen. Planta (Berl.), 15 : 459-494.

FARBER F.E., CAPE M., DECROLY M. et BRACHET J., 1968. - The in vitro translation of Acetabularia mediterranea RNA. Proc. Nat. Acad. Sc., 61 : 843-846.

FARBER F.E., 1969. - Studies on RNA metabolism in Acetabularia mediterranea. II. - The localization and stability of RNA species ; the effects on RNA metabolism of dark periods and actinomycin D. Bioch. Biophys. Acta, 174 : 12-22.

FEIGL F., 1954. - Spot tests. Elsevier Edit. Amsterdam.

FELDMANN G., 1945. - Révision du genre Botryocladia Kylin (Rhodophycée-Rhodymeniale). Bull. Soc. Hist. nat. Afr. du Nord, 35 : 49-61.

FELDMANN J., 1937. - Recherches sur la végétation marine de la Méditerranée. La côte des Albères. Thèse Rouen.

FELDMANN J., 1963. - Les algues. Dans : Botanique, Précis de Sciences Biologiques. Masson Edit., Paris : 83-249.

FELICINI G.P., 1970. - Ricerche sulla rigenerazione in coltura di Pterocladia capillacea (Gmel.) Born. et Thur. II. - Influenza della intensita luminosa sulla morfologia del tallo. Giorn. bot. ital., 104, 1 : 35-47.

FELICINI G.P. et ARRIGONI D., 1967. - Ricerche sulla regenerazione in coltura di Pterocladia capillacea (Gmel.) Born. et Thur. Giorn. bot. ital., 101 : 199-217.

FERNANDEZ A., BALLONI W. et MATERASSI R., 1968. - Sul comportamento di alcuni ceppi du Microalghe nei confronti delle sostanze di crescita. Agric. ital., 68, 6 : 281-286.

FOOG G.E., BOALCH G.T., 1958. - Extracellular products in pure cultures of a brown alga. Nature, 181 : 789-790.

FRANKLAND B. et WAREING P.F., 1960. - Effect of gibberellic acid on hypocotyl growth of lettuce seedlings. Nature, 185 : 255-256.

FRIES L., 1970. - The influence of microamounts of organic substances other than vitamins on the growth of some red algae in axenic culture. Brit. phycol. J., G.B., 5, 1 : 39-46.

FRIES L., 1971. - Behovet av organiska substanser bland havets litorale alger. Svenk Naturvetenskap : 151-155.

FRITSCH F.E., 1965. - The structure and reproduction of the algae. Vol. I et II. - Cambridge Univ. Press.

FRONSON D. et NEMER M., 1970. - Cytoplasmic extraction : polyribosomes and heterogenous ribonucleoproteins without associated DNA. Science, 168, 3928 : 266-267.

GALKINA T.B., 1964. - En russe : Sur l'utilisation répétée des milieux nutritifs pour la culture de Chlorella pyrenoidosa. Probl. Kosm. Biol., S.S.S.R., 3 : 428-431.

GALKINA N.V. et KUCHKAROVA M.A., 1966. - En russe : Influence des Cyanophycées sur la germination des graines, la croissance et le développement des plantules de quelques plantes cultivées et sauvages. Dokl. Akad. Nank. Uz. S.S.R., 23, 4 : 51-53.

GASPAR Th., 1965. - Catabolisme auxinique et effecteurs auxines-oxydasiques. Etude comparée chez Lens culinaris et Salvia splendens. Bull. Soc. Roy. Sc., Liège, 34 : 391-396.

GATES J., ANDERSON J., LYNCH D. et FENWICK M.G., 1966. - Some physiological studies on two strains of the green alga Coelastrum microporum Naeg. Trans. Illinois State Acad. Sc., 59, 4 : 399-400.

GAUMANN E. et JAAG O., 1950. - Bodenbewohnende Algen als Wuchsstoffspender für bodenbewohnende Pilze. Phytopathol. Z. : 17.

GAUTHERET R.J., 1938. - La culture des tissus végétaux. Science, 20 : 57.

GAUTHERET R.J., 1959. - La culture des tissus végétaux. Technique et réalisations. Masson Edit., Paris.

GEITLER L., 1931. - Untersuchungen über das sexuelle Verhalten von Tetraspora lubrica. Biol. Zbl., 51 : 173-187.

GORDON S.A., 1956. - The biogenesis of natural auxins, dans : WAIN R.L., WIGHTMAN F., ed., the chemistry and mode of action of plant growth substances. London Butterworths Scient. Publ. : 465 pp.

GORDON S.A., 1961. - The biogenesis of auxin, dans : Handbuch der Pflanzenphysiologie, 14, Springer Verlag., 14 : 620-646.

GORDON S.A. et WEBER J.P., 1951. - Colorimetic estimation of indoleacetic acid. Plant Physiol., 26 : 192-195.

GORYACHEV P., 1963. - En russe : The effect of gibberellin upon the cells and coenobia of Pediastrum boryanum (Turp.) Menegh. Mikrobiologiya, 32, 2 : 296-298.

GOTTING K.J., 1963. - Zur Reinkultur von Dunaliella. Helgoländer Wiss. Meeresunters., 8 : 404-425.

GRIFFIN D.N., 1958. - The effect of gibberellic acid upon Euglena. Proc. Oklahoma Acad. Sc., 38 : 14-15.

GUO J.F., 1959. - En chinois : Effect of gibberellic acid and other plant growth stimulators on the growth of Laminaria japonica Aresch. Kexue Tongbao (Scientia), 4 : 130-131.

GUO J.F. et ZHANG Y.F., 1959. - En chinois : Effects of gibberellic acid and indole-3-acetic acid on the growth and multiplication of the unicellular marine alga Dunaliella salina. Kexue Tongbao (Scientia), 6 : 201-202.

GUPTA A.B., 1964. - The role of subterranean Myxophyceae in rice Fields. J. Sci. and Tech., 2, 1 : 42-43.

GUPTA A.B., 1966. - Algal Flora and its importance in the economy of rice Fields. Hydrobiologia, Pays-Bas, 28, 2 : 213-222.

GUPTA A.B. et KUSUM LATA, 1964. - Effects of algal growth hormones on the germination of paddy seeds. Hydrobiologia, Pays-Bas, 24, 1-3 : 430-434.

GUPTA A.B. et SHUKLA A.C., 1964. - The effect of algal hormones on the growth and development of rice seedlings. J. Sci. et Tech., 2, 3 : 204.

GUPTA A.B. et SHUKLA A.C., 1969. - Effect of algal extracts of Phormidium species on growth and development of rice seedlings. Hydrobiologia, Pays-Bas, 34, 1 : 77-84.

HABER A.H. et TOLBERT N.E., 1959. - Effects of gibberellic acid, kinetin and light on the germination of lettuce seed. Dans : Photoperiodism and related phenomena in plants and animals. R.B. WITHROW Edit., Amer. Ass. Adv. Sc., Washington, U.S.A. : 197-206.

HABERLANDT G., 1906. - Ueber den Geotropismus von Caulerpa prolifera. Sitzber, Akad. Wiss. Wien, Mat-nat. Kl. : 577-598.

HABERLANDT G., 1929. - Ueber Regenerations Vorgänge bei Bryopsis und Codium. Sitzber, Preuss. Akad. Wiss. Wien, Mat-nat. Kl. : 327-340.

HAMMERLING J., 1952. - Uber die Fortpflanzung von Cymopolia, nebst Bemerkungen über Neomeris und Dasycladus. Biol. Zentr., 71 : 1-10.

HAMMERLING J., CLAUSS H., KECK K., RICHTER G. et WERZ G., 1958. - Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Experimental Cell Research, suppl. 6 : 210-226.

HAMMERLING J., CLAUSS H., KECK K., RICHTER G. et WERZ G., 1959. - Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res., suppl. 6, 210-226.

HARADA H., 1962. - Etude des substances naturelles de croissance en relation avec la floraison ; isolement d'une substance de montaison. Thèse, Paris : 106 pp.

HARADA H. et YOKOTA T., 1970. - Isolation of gibberellin A_8 - glucoside from shoot apices of Althaea rosea. Planta, (Berl.), 92 : 100-104.

HARDER R., 1917. - Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Cyanophyceen hauptsächlich den endophytischen Nostoc punctiformis. Z. Bot., 9 : 145.

HARDER R. et VON WITSCH H., 1943. - Uber Massenkultur von Diatomeen. Ber. dent. bot. Ges., 60 : 146-152.

HARRIS D.D., 1970. - An autoinhibitary substance produced by Platidorina caudata. Plant Physiol., 45 : 210-214.

HARRIS D.D., 1971. - Growth inhibitors produced by the green algae (Volvocaceae). Arch. Mikrobiol., Dtsch., 76, 1 : 47-50.

HARVEY H.W., 1939. - Substances controlling the growth of a diatom. J. Mar. Biol. Assoc., 23, 2 : 499-520.

HECHT S.M., LEONARD N.J., BURROWS W.J., ARMSTRONG D.T., SKOOG F. et OCCOLOWITZ J., 1969. - Cytokinin of wheat germ transfer RNA : 6-(4-hydroxy-3-methyl-2-butenylamino)-2-methylthio-9-β-D-ribofuranosylpurine. Science, 166, 3910 : 1272-1274.

HECKLEY R.J., 1961. - Preservation of bacteria by lyophilisation. Advances Appl. Microbiol., 3 : 1-76.

HELGESON J.P., 1968. - The cytokinins. Science, 161 : 974-981.

HELGESON J.P. et LEONARD N.J., 1966. - Cytokinins : identification of compounds isolated from Corynebacterium fascians. Botany, 56 : 60-63.

HERICH R., 1961. - Influence of gibberellic acid on metabolism of amino acids. Physiol. Plant, 14, 1 : 111-114.

HILGENBERG W., 1965. - Wuchsstoff aus verschiedenen Entwicklungsstadien von Phycomyces blakesleeanus (Bgff.). Beitr. Biol. Pflanz., 41 : 69-122.

HOFFMANN P., 1969. - Kinetinbedingte Verzögerung des lichtinduzierten Chlorophyllabbaus bei der Grünalge Monostroma balticum. Biol. Rdsch. Dtsch., 7, 2 : 72-73.

HOFFMANN P. et RATHSACK R., 1970. - Zur Cytokinin - Wirkung bei Blaualgen. Bioch. Physiol. Pflanz., Dtsch., 161, 1 : 95-96.

HUSSAIN A. et BONEY A.D., 1969. - Isolation of kinin-like substances from Laminaria digitata. Nature, 223, 5205 : 504-505.

HUSTEDE H., 1957. - Untersuchungen über die stoffliche Beeinflussung der Entwicklung von Stigeoclonium falklandicum und Vaucheria sessilis durch Tryptophanabkömmlinge. Biol. Zbl., 76 : 555-595.

IKUMA H. et THIMANN K.V., 1960. - Action of gibberellic acid on lettuce seed germination. Plant Physiol., 35 : 557-566.

IWAMURA T., 1959. - Changes in content and distribution of purines and pyrimidines in Chlorella during its life cycle. Fed. Proc., 18, 1 : 252.

IWASAKI H., 1965. - Nutritional studies on the edible seaweed Porphyra tenera. I. - The influence of different B12 analogues, plant hormones, purines and pyrimidines on the growth of Conchocelis. Plant and Cell Physiol. (Jap.), 6, 2 : 325-336.

JABLONSKI J.R. et SKOOG F., 1954. - Cell enlargement and cell division in excised tobacco pith tissue. Physiol. Plantarum, 7 : 16-24.

JACOBS W.P., 1951 a. - Auxin control of rhizoid-formation in Bryopsis. Biol. Bull., 101 : 238.

JACOBS W.P., 1951 b. - Studies on cell-differenciation : the role of auxin in algae, with particular reference to rhizoid formation in Bryopsis. Biol. Bull., 101 : 300-306.

JAHNKE E. et LIBBERT E., 1964. - Indol-3-Essigsäure als einziges natives Auxin bei Chara - Arten. Z. Bot., Dtsch., 52, 3 : 283-290.

JANKE A., 1939. - The growth factor question in microbiology. Zentr. Bakteriol. Parasitenk, 2, 100 : 409-459.

JENNINGS R.C., 1968. - Gibberellins as endogenous growth regulators in green and brown algae. Planta (Berl.), 80, 1 : 34-42.

JENNINGS R.C., 1969 a. - Gibberellin antagonism by material from a brown alga. New Phytol., 68 : 683-688.

JENNINGS R.C., 1969 b. - Cytokinins as endogenous growth regulators in the algae Ecklonia and Hypnea. Austral. J. biol. Sci., 22, 3 : 621-627.

JENNINGS R.C., 1971. - Studies on the regulation of algal growth by gibberellin. Austral. J. biol. Sci., 24 : 1115-1124.

JENNINGS R.C. et MAC COMB A.J., 1967. - Gibberellins in the red alga Hypnea musciformis (Wulf) Lamour. Nature, 215, 5103 : 872-873.

JENNINGS R.C., BROUGHTON W.J. et MAC COMB A.J., 1972. - Effect of kinetin on the phycoerythrin and chlorophyll content of a red alga. Phytochemistry, 11 : 1937-1943.

JOHNSTON R., 1963. - Effects of gibberellins on marine algae in mixed cultures. Limnol. and Oceanogr., 8, 2 : 270-275.

JOLLOS V., 1926. - Untersuchungen über die Sexualitätsverhältnisse von Dasycladus clavoeformis. Biol. Zbl., 46 : 279-295.

JONES D.F., 1964. - Examination of the gibberellin of Zea mays and Phaseolus multiflorus using thin layer chromatography. Nature, 202 : 1309-1310.

JONES R.L. et VARNER J.E., 1967. - The bioassay of gibberellins. Planta (Berl.), 72 : 155-161.

JORGENSEN E.G., 1956. - Growth inhibiting substances formed by algae. Physiol. Plant., 9 : 712.

JORGENSEN E.G. et STEEMANN NIELSEN E., 1961. - Effect of filtrates from cultures of unicellular algae on the growth of Staphylococcus aureus. Physiol. Plant., 14 : 896-908.

KAGAWA T., FUKINBARA T. et SUMIKI Y., 1963. - Thin layer chromatography of gibberellins. Agr. Biol. Chem., 27, 8 : 598-599.

KAHN A., GROSS J.A. et SMITH D.E., 1957. - Effect of gibberellin on germination of lettuce seed. Science, 125 : 645.

KAHN W., 1964. - Différents modes d'extraction des pesticides. Anal. Chem., 36 : 1340.

KALE S. et KRISHNAMURTHY V., 1969. - Effect of IAA on the excised pieces from different regions of Ulva lactuca var. rigida. Rev. Algol., 9, 3 : 275-281.

KAPER J.M. et VELDSTRA H., 1958. - On the metabolism of tryptophane by Agrabacterium tumefaciens. Biochem. biophys. Acta, Amst., 30 : 401-420.

KATO J., PURVES W.K. et PHINNEY B.O., 1962. - Gibberellin-like substances in plants. Nature, 196, 4855 : 687-688.

KEFFORD N.P., 1955. - The growth substances separated from plant extracts by chromatography. J. Exp. Bot., 6 : 129-151.

KENDE H., 1964. - Preservation of chlorophyll in leaf sections by substances obtained from root exudate. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S., 53 : 1066-1067.

KENTZER T. et ROWICKA K., 1963. - The use of different varieties of oats in bioassays for the determination of plant growth-regulators. Acta agrobot., 13 : 117-130.

KIM W.K., 1961. - Influences of several plant growth substances on four species of algae. These, Univ. North Carolina.

KIM W.K., 1962. - Influences of several plant growth substances on four species of algae. Dissert. Abstr., U.S.A., 23, 2 : 409.

KIM W.K. et GREULACH V.A., 1961. - Promotion of algal growth by AIA, GA and kinetin. Plant Physiol., 36, suppl. XIV : 45.

KINOSHITA S. et TERAMOTO K., 1958. - En japonais : on the efficiency of gibberellin on the growth of Porphyra - frond. Bull. Japan Soc. Phycol., 6 : 85-88.

KLÄMBT D., 1968. - Cytokinins aus Helianthus annuus. Planta, 82 : 170-178.

KLÄMBT D., THIES G. et SKOOG F., 1966. - Isolation of cytokinins from Corynebacterium fascians. Proc. nat. Acad. Sci., U.S.A., 56 : 52-63.

KNIGHT M., 1947. - Biological study of Fucus vesiculosus and Fucus serratus. Proc. Linn. Soc. London, 159 : 87-90.

KNIGHT M. et PARKE M., 1950. - A biological study of Fucus vesiculosus L. and Fucus serratus L. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. : 29.

KOCHERT G. et YATES I., 1970. - A U.V. labile morphogenetic substances in Volvox carteri. Develop. Biol., U.S.A., 23, 1 : 128-135.

KOSHIMIZU K., MATSUBARA S., KUSAKI T. et MITSUI T., 1967. - Isolation of a new cytokinin from immature yellow lupin seeds. Agr. Biol. Chem., 31, 7 : 795-801.

KRIENKE H., 1966. - Untersuchengen der Aktivität der I.E.S. oxydase einiger mehrzelliger Algen. Abstract International Meeting on Plant Growth Regulators, Rostock.

KROES H.W., 1970. - Excretion of mucilage and yellow-brown substances by some brown algae from the intertidal zone. Bot. Mar., Allem., 13, 2 : 107-110.

KUFFERATH H., 1929. - La culture des algues. Rev. Alg. : 127-346.

KUO C.F., 1959. - En chinois : Effect of gibberellic acid and some other plant growth stimulators on the growth of brown algae Laminaria japonica. K'O Hsüeh T'ung Pao : 130-131.

HUO C.F. et CHANG Y.F., 1960. - Effects of gibberellic acid and indole-3-acetic acid on a marine unicellular algae Dunaliella salina. Chem. Abstr., 54 : 2503.

KURAISHI S., 1959. - Effect of kinetin analogs on leaf growth. Scient. Pap. Coll. gen. Educ., Tokyo, 9, 1 : 67-104.

KURAISHI S., KASAMO K. et HAYASHI T., 1968. - Effect of auxin on the incorporation of proline into the naked protoplasm of Chara globularia. Plant and Cell Physiol. (Jap.), 9, 2 : 401-404.

KURANCOWA Z., 1966. - En polonais : Etude de l'effet de l'acide dichloro-2-4-phénoxyacétique sur les cellules d'Euglena gracilis Klebs. Ann. Univ. Mariae Curie Sklodowska, C, Pologne, 21 : 343-352.

KUSHWAHA A.S. et GUPTA A.B., 1970 a. - Effect of pretreating the seeds with extracts of Phormidium foveolarum on growth and development of maize seedlings. Hydrobiologia, Pays-Bas, 35, 2 : 203-208.

KUSHWAHA A.S. et GUPTA A.B., 1970 b. - Effect of algal growth promoting substances of Phormidium foveolarum on seedlings of some varieties of wheat. Hydrobiologia, Pays-Bas, 35, 2 : 324-332.

KYLIN H., 1941. - Biologische analyse des Meerwassers. Kungl. Fysiogr. Sällsk. i Lund Förhandl., 11 : 109-121.

KYLIN H., 1942. - Uber den Einfluss von Glucose, Ascorbinsaüre und Heteroauxin auf die Keimlinge von Ulva und Enteromorpha. Kungl. Fysiogr. Sällsk. i Lund Förhandl., 12 : 135-148.

LANG A., 1965. - Physiology of growth and development in algae. A synopsis. Dans : Handbuch der Pflanzenphysiologie, 15, 1, hrsg W. RUHLAND, Berlin, Göttingen, Heidelberg, Springer : 680-715.

LAZAROFF N. et VISHNIAC W., 1961. - The effect of light on the developmental cycle of Nostoc muscorum, a filamentous blue-green alga. J. gen. Mikrobiol., 25 : 365-374.

LEDERER E. et LEDERER M., 1957. - Chromatography. A new review of principles and applications. Elsevier Publ. Comp. : 567 pp.

LEFEVRE M., 1949. - Sur les propriétés peu connues de certaines algues d'eau douce et de leurs possibilités d'application. Bull. Soc. Bot. N. Fr., 2 : 86-89.

LEFEVRE M. et JAKOB H., 1949 a. - Sur quelques propriétés des substances actives tirées des cultures d'algues d'eau douce. C.R. Acad. Sc. Paris, 229 : 234-236.

LEFEVRE M., JAKOB H. et NISBET M., 1949 b. - Sur la sécrétion, par certaines Cyanophycées, de substances algostatiques dans les collections d'eau naturelle. C.R. Acad. Sc. Paris, 220 : 2226-2227.

LEFEVRE M., JAKOB H. et NISBET M., 1949 c. - The action of substances excreted in culture by certain species of algae on the metabolism of other algal species. Proc. Intern. Assoc. Limnol., 10 : 259-264.

LEFEVRE M., LAPORTE G. et FLANDRE D., 1963. - Sur la sécrétion, par certaines Cyanophycées de substances stimulant la multiplication cellulaire. C.R. Acad. Sc. Paris, 256, 1 : 254-256.

LEFEVRE M. et NISBET M., 1948. - Sur la sécrétion par certaines espèces d'algues de substances inhibitrices d'autres espèces d'algues. C.R. Acad. Sc. Paris, 226 : 107-109.

LEONIAN L.H., 1935. - Effect of auxins from some green algae upon Phytophtora cactorum. Bot. Gaz., 97 : 854-859.

LEONIAN L.H. et LILLY V.G., 1937. - Is heterauxin a growth-promoting substance ? Amer. J. Bot., 24 : 135-139.

LERSTEN N.R. et VOTH P.D., 1960. - Experimental control of zoid discharge and rhizoid formation in the green alga Enteromorpha. Bot. Gaz., 122 : 33-45.

LETHAM D.S., 1963. - Zeatin, a factor inducing cell division, isolated from Zea mays. Life Sciences, 2 : 569-573.

LETHAM D.S., 1964. - Isolation of a kinin from plum fruitlets and other tissues. Dans : Régulateurs naturels de la croissance végétale. Colloq.Intern. C.N.R.S., Paris, : 109-117.

LETHAM D.S., 1966 a. - Purification and probable identity of a new cytokinin in sweet corn extracts. Life Sciences, 5 : 551-554.

LETHAM D.S., 1966 b. - Isolation and probable identity of a third cytokinin in sweet corn extracts. Life Sciences, 5, 21 : 1999-2004.

LETHAM D.S., 1967. - Chemistry and physiology of kinetin like compounds. Annual Review of Plant Physiology, 18 : 349-363.

LEVEDAHL B.H., BUETOW D.E. et COLLINS J.D., 1958. - Steroid hormones and cell growth. Fed. Proc., 17, 1 : 95.

LEVRING T., 1945 a. - Some culture experiments with marine plankton diatoms. Göteborgs Kungl. Vetenskaps och Vitterhetssamhälles Handl., 6, 8, 3, 12 : 1-18.

LEVRING T., 1945 b. - Some culture experiments with Ulva and artificial sea water. Kungl. Fysiogr. Sallsk. Lund Förhandl., 16, 7 : 1-12.

LHOTSKY F., 1954. - En tchécoslovaque : Les algues en tant que matériel-test. Ceskoslovenska Biologia, 3, 1 : 58-62.

LIBBERT E., 1960. - Das Indolessigsäure-bildende Enzymsystem aus Erbsenpflanzen. Z. Bot., 48 : 365-380.

LIBBERT E. et JAHNKE E., 1965. - Untersuchungen über die Apikaldominanz bei Chara-Arten sowie ihre Beeinflussbarkeit durch Auxin (Indolessigsäure) und Antiauxin (p-Chlorphenoxyisobuttersäure). Biol. Zbl., Dtsch., 84, 1 : 25-41.

LIBBERT E., ERDMANN N. et SCHIEWER U., 1970. - Auxinbiosynthese. Biol. Rundschau, 8, 6 : 369-390.

LIEN T., PETTERSEN R. et KNUTSEN G., 1971. - Effects of indole-3-acetic acid and gibberellin on synchronous cultures of Chlorella fusca. Physiol. Plant., Danem., 24, 2 : 185-190.

LIETGEB H., 1887. - Die Incrustation der Membran von Acetabularia. S.B. Akad. Wiss. Wien, math. nat. Kl., 96 : 13-38.

LILLY V.G. et LEONIAN L.H., 1941. - Some factors affecting the dry weight of "Chlorella vulgaris". Amer. J. Bot., 28, 7 : 569-572.

LOCKHART J., 1962. - Kinetic studies of certain anti-gibberellins. Plant. Physiol., Lancaster, 37 : 759.

LOEFFLER J.E. et VAN OVERBEEK J., 1964. - Kinin activity in coconut milk. Dans : Régulateurs naturels de la croissance végétale. Colloq. Intern. C.N.R.S., Paris, 123 : 77-82.

LUCAS C.E., 1947. - The ecological effects of external metabolites. Biol. Rev., 22 : 270-295.

LUCAS C.E., 1955. - External metabolites in the sea. Deep-sea Res., 3 : 139-149.

LUCK H.H., 1962. - Zellteilung und Zellstreckung bei Choetomorpha linum. Uber die Wirkung unterschiedlicher H-ionen und alpha-Naphtylessigsäurekonzentrationen. Phyton, 18, 2 : 183-190.

LUCKWILL L.G., 1952. - Application of paper chromatography to the separation and identification of auxins and growth inhibitors. Nature, 169, 4296 : 375.

LUNVEN P., 1963. - Considérations sur le dosage du tryptophane dans les aliments végétaux. Qualit. Plantar. mater. vegetab., 10, 1-4 : 276-291.

MAC COMB A.J., 1961. - Bound gibberellin in mature runner bean seeds. Nature, 192, 4802 : 575-576.

MAC COMB A.J., 1962. - The movement of gibberellic acid in pea seedling. Ph. D. Diss. Cambridge.

MACHLIS L., 1953. - Evidence for the hormonal control of sexual reproduction in Oedogonium and Allomyces. Biology Colloquium, 1961, Oregon State University.

MACHLIS L., 1962. - The nutrition of certain species of the green alga Oedogonium. Amer. J. Bot. 49 : 171-183.

MAC LACHLAN J. et CRAIGIE J.S., 1964. - Algal inhibition by yellow ultraviolet-absorbing substances from Fucus vesiculosus. Canad. J. Bot., 42 : 287-292.

MACMILLAN J., SEATON J.C. et SUTTER P.J., 1961. - Gibberellins. In : "Advances in chemistry". GOULD R.F. Edit., American Chemical Society, Washington D.C., 28 : 18-25.

MACMILLAN J. et SUTTER P.J., 1963. - Thin layer chromatography of the gibberellins. Nature, 197, 4869 : 790.

MAHADEVAN S., 1963. - Enzymes involved in synthesis and breakdown of indole acetic acid. Dans : Modern methods of plant analysis. Berlin-Göttingen-Heidelberg Springer : 238.

MANDS E., 1945. - The effect of heteroauxin on the growth of Chlorella. Biol. Rev. Coll., N.Y., 7 : 11.

MASJUK N.P., 1961. - En ukrainien : Action de l'acide gibbérellique sur l'algue Dunaliella salina Teod. Ukrain. Bot. Zh., 18, 5 : 62-64.

MASJUK N.P., 1965. - En ukrainien : Les carbonates et les bicarbonates en tant que stimulateurs de la croissance et de l'accumulation du carotène dans Dunaliella salina Teod. Ukrain. Bot. Zh., 22, 6 : 18-22.

MAST S.O. et PACE D.M., 1938. - The effects of substances produced by Chilomonas paramecium on the rate of reproduction. Physiol. Zool., 11 : 359-382.

MAYER A.M., NEUMAN G. et EVENARI M., 1959. - The effect of light and gibberellic acid on the elongation of lettuce hypocotyls. Bull. Res. Counc. Israel, D, 7 : 97-100.

MIKES O., et TURKOVA J., 1964. - Hydroxamaty a jejich zelezité komplexy novy typ prirodnich latek. Chem. Listy, 58 : 65-123.

MILLER C.D., SKOOG F., VON SALTZA M.H. et STRONG F.M., 1955. - Kinetin : a cell division factor from desoxyribonucleic acid. J. Am. Chem. Soc., 77 : 1392.

MOEWUS F., 1933. - Untersuchungen über die Sexualität und Entwicklung von Chlorophycen. Archiv. Protistenkunde, 80 : 467-526.

MOEWUS F., 1940. - Uber Zoosporen-Kopulationen bei Monostroma. Biol. Zbl., 60 : 225.

MOEWUS F. et MOEWUS L., 1952 a. - Sensibility of cress roots to indoleacetic acid. Nature, 170 : 373.

MOEWUS F. et SKWARRA H., 1952 b. - Nachweis von zwei Wuchsstoffen in Samen der Kresse. Contrib. Boyce Thomps. Instit., 40 : 254.

MOEWUS F., 1955. - Effect of kinetin on cell division of Polytoma uvella. Abstracts, 7th Intern. Congr. f. Microb., Stockholm : 38.

MOEWUS F., 1959 a. - Competitive antagonism between kinetin and 8-azaguanine in Polytoma uvella. Science, 130, 3380 : 921-922.

MOEWUS F., 1959 b. - Stimulation of the mitotic activity by kinetine and benzidine in Polytoma uvella. Trans. Amer. Micr. Soc., 78, 3 : 295-304.

MOHSEN A.F.A., 1966. - Studies on the effects of different nutritive media on Cosmarium botrytis. Bull. Fac. Sci., Alex. Univers., 7, 2 : 201-209.

MOLINIER R., 1960. - Etude des biocénoses marines du Cap Corse. Vegetation, Dan Haag, 9, 3-5 : 126-312.

MONAHAN T.J. et TRAINOR F.R., 1970. - Stimulatory properties of filtrate from the green alga Hormotila blennista. I. - Description. J. Phycol., U.S.A., 6, 3 : 263-269.

MONAHAN T.J. et TRAINOR F.R., 1971. - Stimulatory properties of filtrate from the green alga Hormotila blennista. II. - Fractionation of filtrate. - J. Phycol., U.S.A., 7, 2 : 170-176.

MONER J.G., 1954. - Evidence for a swarming substance which stimulates colony formation in the development of Pediastrum duplex Meyen. Biol. Bull., 107 : 236-246.

MONTUELLE B. et DEBRY C., 1965. - Remarques sur le dosage biologique des gibbérellines par l'élongation de la feuille d'avoine. Dans : Les phytohormones et l'organogenèse. R. BOUILLENNE Edit. Congrès et Colloques Univ. Liège, 38 : 393-399.

MONTUELLE B. et OCHIN D., 1967. - Etude critique d'un nouveau dispositif pour le dosage des gibbérellines par élongation de la feuille d'avoine. Bull. Soc. Physiol. veg., 13 : 141-151.

MOORE S., 1963. - Sur la détermination de la cystéine sous forme d'acide cystéique et de la méthionine. J. Biol. Chem., 238 : 235-237.

MOORE S., SPACKMAN D. et STEIN W., 1958. - Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. Analyt. Chem., 30 : 1185-1190.

MOSS B., 1958. - Growth substances and the regeneration of adventitions branches of Fucus vesiculosus. Third Intern. Seaw. Sympos., Galway 1958, O Heocha Edit.

MOSS B., 1964. - Wound healing and regeneration in Fucus vesiculosus. IVe Congr. Intern. Algues mer., Biarritz 1961, Pergamon Press : 117-122.

MOSS B., 1965. - Apical dominance in Fucus vesiculosus. New Phytologist (G.B.), 64, 3 : 387-392.

MOWAT J.A., 1963 a. - Gibberellin-like substances in algae. Nature, 200, 4905 : 453-455.

MOWAT J.A., 1963 b. - Auxins and gibberellins in marine algae. IVe Congr. Intern. Algues mar., Biarritz 1961, Pergamon Press : 352-359.

MOWAT J.A., 1964. - A survey of results on the occurence of auxins and gibberellins in algae. Botanica marina, 8, 1 : 149-155.

MUDD J.B. et ZALIK S., 1958. - The metabolism of indole by tomato plant tissues and extracts. Canad. J. Bot., 36 : 467.

MULLER D.G., 1967. - Ein leicht flüchtiges Gynogamon der Braunalge Ectocarpus siliculosus. Zeitschrift der Naturwissenschaften, 18 : 496-497.

MULLER D.G., 1968. - Versuche zur Charakterisierung eines Sexual-Lockstoffes bei der Braunalge Ectocarpus siliculosus. I. - Methoden, Isolierung und gaschromatographischer Nachweis. Planta (Berl.), 81 : 160-168.

MULLER D.G., JAENICKE L., DONIKE M. et AKINTOBI T., 1971. - Sex attractant in a brown alga : chemical structure. Science, 171, 3973 : 815-817.

MULLER-STOLL W.R., 1952. - Uber Regeneration und Polarität bei Enteromorpha. Flora Allgem. Bot. Zeitung, 139 : 148-180.

MURAKAMI Y., 1961. - Formation of gibberellin A_3 glucoside in plant tissues. Bot. Mag., Tokyo, 74 : 424-425.

MURAKAMI Y., 1965. - En japonais : Proc 6th Symp. Japan. Soc. Plant. Physiol., 62.

MURAKAMI Y., 1966. - En japonais : Bioassay of gibberellins using Rice Endosperm and some problems of its application. Bot. Mag., Tokyo, 79 : 315-327.

MURASHIGE T. et SKOOG F., 1962. - A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant., 15 : 473-497.

NAKAZAWA S., ABE M. et CALDWELL M.J., 1970. - Polarity dtermination in Fucus eggs by localized exposure to RNase. Bot. Mag. Tokyo, 83, 987-988 : 325-329.

NASR A.H., 1939. - On the phototropism of Acetabularia caliculus. Rev. Algol., 11 : 347-350.

NASR A.H. et BEKHEET I.A., 1969. - The effect of some organic micronutrients on some marine algae from Alexandria. Hydrobiologia, Pays-Bas, 34, 3-4 : 295-304.

NASR A.H. et BEKHEET I.A., 1970. - Effect of certain trace elements and soil extract on some marine algae. Hydrobiologia, Pays-Bas, 36, 1 : 53-60.

NITSCH J.P., 1956. - Methods for the investigation of natural auxins and growth inhibitors. Dans : WAIN R.L. et WHIGHTMAN F., the chemistry and mode of action of plant growth substances. London Butterworths : 3-31.

NITSCH J.P., 1960 a. - La chromatographie double à une dimension et son emploi à la séparation des substances de croissance. Bull. Soc. Bot. Fr., 107 : 247-250.

NITSCH J.P., 1960 b. - L'étude des substances de croissance naturelles des plantes supérieures. Bull. Soc. Fr. Physiol. vég., 6, 3 : 137-146.

NITSCH J.P., 1960 c. - Présence d'une substance type cinétine dans le jus de tomate. Bull. Soc. Bot. Fr., 107 : 263-267.

NITSCH J.P., 1968. - Natural cytokinins. Plant growth regulators. Soc. Chem. Ind., London : 111-123.

NITSCH J.P. et NITSCH C., 1955. - The separation of natural plant growth substances by paper chromatography. Beitr. Biol. Pflan., 31 : 387-408.

NITSCH J.P. et NITSCH C., 1956. - Studies on the growth of coleoptile and first internode sections. A new sensitive straightgrowth test for auxins. Plant Physiol., 31 : 94-111.

NITSCH J.P. et NITSCH C., 1958. - Activité de quelques composés indoliques sur le test mésocotyle. Bull. Soc. Bot., Fr., 105 : 482-490.

NITSCH J.P. et NITSCH C., 1960. - Action comparée de divers composés indoliques sur le test mésocotyle. Bull. Soc. Bot., Fr., 107 : 318-326.

NITSCH J.P. et NITSCH C., 1962. - Activités comparées de neuf gibbérellines sur trois tests biologiques. Ann. Physiol. vég., 4 : 85-97.

NITSCH J.P. et NITSCH C., 1965. - Terpénoides naturels actifs sur la croissance végétale. Ann. Physiol. vég., 7, 4 : 259-271.

OGATA E., 1960 a. - En japonais : Etude sur la croissance de Conchocelis. III. - Tropisme dans la direction de la croissance. Bull. Jap. Soc. Sc. Fish., 26, 4 : 389-392.

OGATA E., 1960 b. - En japonais : Etudes sur la croissance de Conchocelis. IV. - Effets de quelques facteurs de l'environnement sur la croissance verticale. Bull. Jap. Soc. Sc. Fish., 26, 4 : 393-396.

OGATA E. et MATSUI T., 1964. - En japonais : Etude manométrique de la respiration de l'algue marine Porphyra tenera. II. - Influence de quelques substances de croissance et des composés azotés et nouvelle estimation de l'influence de la déshydratation et du pH. Bull. Jap. Soc. Sc. Fish., 29, 11 : 991-995.

OISHI K., KUNISAKI N. et OKUMURA A., 1969. - En japonais : Rapport entre la croissance de Laminaria ochotensis et sa composition en acides aminés libres. Bull. Jap. Soc. Sc. Fish., 35, 12 : 1189-1192.

OKAMURA K., 1911. - On the regeneration of Gelidium. Bot. Mag., Tokyo, 25 : 373-378.

OLSON R.A. et DU BUY H.G., 1937. - The rôle of growth substance in the polarity and morphogenesis of Fucus. Amer. J. Bot., 24 : 611-617.

OLSZEWSKA M.J., 1958. - L'influence de la kinétine sur l'allongement des cellules et sur l'intensité des divisions cellulaires chez Spirogyra longata. Bull. Soc. Sc. et Lettr., Lodz, Sc. math. et nat., 9, 1 : 1-3.

ONDRATSCHEK K., 1940. - Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss von Wirkstoffen auf die Vernehrung einiger mixotropher Algen. Arch. f. Mikrobiol., Berlin : 11.

OPPENDORTH W.F.F., 1941. - On the rôle of auxin in phototropism and light growth reaction of Avena coleoptile. Rec. Trav. Bot. Neerl., 38 : 287.

OSBORNE D.J. et MAC CALLA D.R., 1961. - Rapid bioassay for kinetin and kinins using senescing leaf tissue. Plant Physiol., 36 : 219-221.

OUSHEVA N., POPOV K. et MANOLOVA M., 1968. - The effect of gibberellic acid and 6-benzylaminopurine on the accumulation of biomass in Chlorella. C.R. Acad. bulg. Sci., 21, 9 : 925-928.

PALAMARCHUK A.S. et BLITMAN S.M., 1969. - En ukrainien : Growth of Chlorella vulgaris Beijer on balanced and nonbalanced nutrient media with stimulators of growth. Ukrains'Kyj Botanicnyj Zurnal : 26.

PALMORK K.H., 1963. - Studies of the dissolved organic compounds in the sea. Report on Norvegian Fishery and Marine Investigations, 13 : 120-125.

PASTER Z. et ABBOT B.C., 1970. - Gibberellic acid : a growth factor in the unicellular alga Gymnodinium breve. Science, U.S.A., 169, 3945 : 600-601.

PEDERSEN M., 1968. - Ectocarpus fasciculatus : marine brown alga requiring kinetin. Nature, 218, 5143 : 776.

PELLEGRINI M., 1968. - Contribution à l'étude chimique des algues méditerranéennes (fractions azotées - acides aminés protidiques). Thèse 3e cycle, Marseille : 156 pp.

PELLEGRINI M., 1970. - Contribution à l'étude chimique des algues méditerranéennes (fractions azotées de quelques Rhodophycées). Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 30 : 189-204.

PELLEGRINI L. et PELLEGRINI M., 1971 a. - Contribution à l'étude biochimique des Cystoseiracées méditerranéennes. I. - Cystoseira stricta (Mont.) Sauvageau. Botan. mar., 13 : 1-11.

PELLEGRINI L. et PELLEGRINI M., 1971 b. - Contribution à l'étude biochimique des Cystoseiracées méditerranéennes. III. - Cystoseira fimbriata (Desf.) Bory. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 31 : 185-195.

PELLEGRINI L. et PELLEGRINI M., 1972 a. - Contribution à l'étude biochimique des Cystoseiracées méditerranéennes. V. - Cystoseira balearica Sauvageau. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 32 (sous presse).

PELLEGRINI L. et PELLEGRINI M., 1972 b. - Contribution à l'étude biochimique des Cystoseiracées méditerranéennes. VI. - Cystoseira crinita (Desf.) Bory in Montagne. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 32 (sous presse).

PELLEGRINI L. et PELLEGRINI M., 1972 c. - Contribution à l'étude biochimique des Cystoseiracées méditerranéennes. VII. - Cystoseira barbata (Good. et Woodw.) Ag. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 32 (sous presse).

PELLEGRINI L. et PELLEGRINI M., 1972 d. - Contribution à l'étude biochimique des Cystoseiracées méditerranéennes. VIII. - Cystoseira discors c. Ag. Bull. Mus. Hist. nat., Marseille, 32 (sous presse).

PERES J.M. et PICARD J., 1964. - Nouveau manuel de bionomie benthique de la mer Méditerranée. Rec. Trav. St. mar. End., 31, 47 : 5-137.

PERES J.M., 1969. - L'avenir de l'aquiculture marine. Dans : A la conquête des océans. Science et vie, 86 : 100-111.

PEREZ R., 1967. - Phénomène de régénération chez Laminaria digitata et son application possible à l'exploitation des Laminaires. Rev. trav. Inst. Pêches marit., 31, 4 : 367-372.

PETERFI I. et BRUGOVITZKY E., 1965. - Wirkung des Merapids auf das Wachstum der Pflanzen. Physiol. Plant., Danem., 18, 2 : 359-367.

PETERFI S. et NAGY-TOTH F., 1963. - En roumain : Sur l'action de la gibbérelline sur la croissance des algues vertes. Communic. Acad. Républ. popul. Roum., 13, 11 : 957-962.

PHELPS R.H. et SEQUEIRA L., 1967. - Synthesis of indoleacetic acid via tryptamine by a cell free system from tobacco terminal buds. Plant Physiol., 42 : 1161.

PHINNEY B.O., 1956. - Growth response of single gene dwarf mutants in maize to gibberellic acid. Proc. Nat. Acad. Sc., U.S.A., 42 : 185-189.

PHINNEY B.O., 1961. - Dwarfing genes in Zea mays and their relation to the gibberellins. Dans : Plant growth regulation. IOWA State Univ. Press, U.S.A. : 489-501.

PHINNEY B.O. et WEST C.A., 1957 a. - Gibberellin-like substances from higher plants. Sympos. Chem. Physiol. Act. Gibb. 132nd meeting, Amer, Chem. Soc., New-York : 8-13.

PHINNEY B.O. et WEST C.A., 1957 b. - The growth response of single gene dwarf mutants of Zea mays to gibberellins and gibberellin like substances. Proc. Int. Genetic. Symp. Sc. Counc., Japan : 384-385.

PILET P.E., 1957. - Dosage photocolorimétrique de l'acide β-indolyl-acétique : application à l'étude des auxines-oxydases. Rev. gen. Bot., 64 : 106.

PILET P.E., 1961. - Les phytohormones de croissance. Masson Edit. : 774 pp.

PINEVICH V.V., VERZILIN N.N. et VASIL'EVA V.E., 1961. - En russe : Action of gibberellic acid on Protococcous algae. Nauch. Dokl. Vysschei. Shkoly, Biol. Nauki : 151-154.

PORATH J. et BENNICH H., 1962. - Recycling chromatography. Arch. Biochem. Biophys., suppl. 1 : 152-156.

PRAT S., 1967. - Accelerated growth of algae. Rev. Roum. Biol. Bot., 12, 2-3 : 207-210.

PRATT R., 1938. - Influence of auxins on the growth of Chlorella vulgaris. Amer. J. Bot., 25 : 498.

PRATT R., 1942. - Studies on Chlorella vulgaris. V. - Some properties of the growth inhibitor formed by Chlorella cells. Amer. J. Bot., 29 : 142-148.

PRATT R. et FONG J., 1940. - Studies on Chlorella vulgaris. II. - Further evidence that Chlorella cells form a growth inhibiting substance. Amer. J. Bot., 27 : 431-436.

PRINGSHEIM E.P., 1946. - Pure cultures of algae. Cambridge Univ. Press London and New-York : 119 pp.

PRINTZ H., 1959. - Investigations of the failure of recuperation and repopulation in croffed Ascophyllum areas. Norske Vidensk. Akad. Oslo Avhaudl. Utg. Mat-nat. Kl.

PROVASOLI L., 1957. - Effect of plant hormones on seaweeds. Biol. Bull., 112 : 321.

PROVASOLI L., 1958. - Effects of plant hormones on Ulva. Biol. Bull., U.S.A., 114, 3 : 375-384.

PROVASOLI L., 1958. - Effect of plant hormones on Ulva lactuca. Third Intern. Seaweed Symposium, Galway, O'hEocha Edit.

PROVASOLI L., 1959. - Growth factor requirements of algae : ecological and cultural implications. Proc. IX. Int. Bot. Congr., 2 : 312.

PROVASOLI L., 1961 a. - Growth factor requirements of algae and ecological implications. Recent Advances in Botany ; 9th Intern. Bota. Congr., Montréal, 1 : 247-249.

PROVASOLI L., 1964. - Growing marine seaweeds. Dans : IVe Congr. Intern. Algues Mar., Biarritz 1961. Pergamon Press : 9-17.

PUISEUX-DAO S., 1957. - Comportement de fragments anucléés de Batophora oerstedi J. Ag. (Dasycladacée) dans l'eau de mer contenant soit un acide aminé, soit une auxine. C.R. Acad. Sc., Paris, 245 : 2371-2374.

PUISEUX-DAO S., 1965. - Morphologie et morphogenèse chez les Dasycladacées. Dans : Travaux dédiés à L. Plantefol. Masson Edit., Paris : 147-170.

PUISEUX-DAO S., VALET G., et BONOTTO S., 1970. - Greffes interspécifiques uninucléées, Acetabularia mediterranea et A. peniculus, et mobilité des substances morphogenétiques dans le cytoplasme. C.R. Acad. Sc., D, Paris, 271, 16 : 1354-1357.

RADLEY M., 1958. - The distribution of substances similar to gibberellic acid in higher plants. Ann. Bot., 22 : 297-307.

RADLEY M., 1961. - Gibberellin-like substances in plants. Nature, 191, 4789 : 684-685.

RAJU P.V., 1970. - Occurence of gibberellin-like substances in some South Indian marine algae. Symposium on plant growth regulators Kharagpur, India. Ind. Soc. Plant Physiol.

RAJU P.V., 1971. - The effect of in SITU application of growth hormones and fertilizers on photosynthetic ^{14}C incorporation in some marine algae. Bot. Mar., 14, 2 : 129-131.

RAMAMURTHY V.D., 1970. - Experimental study relating to red tide. Mar. Biol., Germ., 5, 3 : 203-204.

RAMAMURTHY V.D. et KRISHNAMURTHY K., 1965. - On the culture of the diatom Melosira sulcata (Ehr.) Proc. Ind. Acad. Sc., 62, B, 1 : 25.

RAMAMURTHY V.D. et SESHADRI R., 1966. - Effects of gibberellic acid on laboratory cultures of Trichodesmium erythraneum (Ehr.) and Melosira sulcata (Ehr.) Proc. Ind. Acad. Sc., B, 64, 3 : 146-151.

REINERT J., 1954. - Wachstum und Bewegung. Wachstum. Fortsch. Bot., 16 : 330-341.

REY L.R., 1962. - Principes généraux de la lyophilisation alimentaire. Congrès A.U.I.F.I.A. Dijon, Le Vide, Paris, 101 : 428-444.

REYNOLDS T., 1970. - A new method for separation of gibberellins and growth inhibitors in plant extracts using Sephadex columns. J. Exp. Bot., G.B., 21, 68 : 702-711.

RICE T.R., 1954. - Biotic influences affecting population growth of planktonic algae. Fish. Bull. U.S., 54 : 227-245.

RICHMOND A.E., SACHS B. et OSBORNE D.J., 1971. - Chloroplasts, kinetin and protein synthesis. Physiol. Plant., Danèm., 24, 2 : 176-180.

RIETH A., 1953. - Einige Beobachtungen zur Colchicinwirkung auf die Keimung von Vaucheria - Oosporen. Flora, Jena, 140 : 596-604.

RIETH A., 1969. - Beobachtungen über Polarität und Regeneration an Vaucherien. Kulturpflanzs, Dtsch., 17 : 141-161.

ROBORTH J.R. et THOMAS J.B., 1948. - The synthesis of growth substances. I. - The action of heteroauxin on the growth of Chlorella vulgaris and the influence of light on the production of growth substances. Konnitl. Ned. Akad. Wetenschap. Proc., 51 : 87-99.

ROGOZINSKA J.H., HELGESON J.P., SKOOG F., LIPTON S.H. et STRONG F.M., 1965. - Partial purification of a cell division factor from peas. Plant Physiol., 40 : 469-476.

SALTMAN P.D. et CONRAD H., 1962. - Response of algae to the gibberellins and other plant hormones. Phycol. Soc. Amer., News Bull. (Abstracts), 15 : 8.

SANDAN T. et OGURA T., 1957. - Physiological studies on growth and morphogenesis of the isolated plant cell cultured in vitro. III. - The effects of pH, auxin and metabolic inhibitors. Bot. Mag. Tokyo, 70, 827 : 125-130.

SANDAN T., 1958. - Physiological studies on growth and morphogenesis of the isolated cell cultured in vitro. IV. - The effects of some vitamins, plant growth hormones and fat soluble substances. Bot. Mag. Tokyo, 71, 838 : 159-163.

SANDAN T., 1959. - Physiological studies on growth and morphogenesis of the isolated plant cell cultured in vitro. VI. - The effects of amino acids, adenylic acid, colchicine and gibberellin. Bot. Mag. Tokyo, 72, 850 : 146-151.

SAONO S., 1964. - Effect of gibberellic acid on the growth and multiplication of some soil micro-organism and unicellular green algae. Nature, 204, 4965 : 1328-1329.

SASSA T., TOJYO T. et MUNAKATA K., 1970. - Isolation of a new plant growth substance with cytokinin-like activity. Nature, 227, 5256 : 379.

SAUBERT S. et STRIJOOM B.W., 1969. - The effect of Azotobacter chroococcum and Beijerinckia indica on the growth of Calothrix antartica. Phytophylactica, Afr., S., 1, 3-4 : 153-155.

SCHIEWER U., 1965. - Untersuchungen zum Vitamingehalt, Auxingehalt und Auxinstoffwechsel mehrzelliger Ostseealgen. Dissert. Rostock, 1965.

SCHIEWER U., 1967 a. - Auxinvorkommen und Auxinstoffwechsel bei mehrzelligen Ostseealgen. I. - Zum Vorkommen von Indol-3-Essigsäure. Planta, (Berl.), 74 : 313-323.

SCHIEWER U., 1967 b. - Auxinvorkommen und Auxinstoffwechsel bei mehrzelligen Ostseealgen. II. - Zur Entstehung von Indol-3-Essigsäure aus Tryptophan, unter Berücksichtigung des Einflusses der marinen Bakterienflora. Planta (Berl.), 75 : 152-160.

SCHIEWER U., KRIENKE H. et LIBBERT E., 1967. - Auxinvorkommen und Auxinstoffechsel bei mehrzelligen Ostseealgen. III. - Die Umsetzung von Indol-3-Acetonitril und von Indol-3-Essigsaüre. Planta (Berl.), 76 : 52-64.

SCHIEWER U., et LIBBERT E., 1965. - Indolacetamid - ein Intermediat der Indolessigsäurebildung aus Indolacetonitril bei der Alge Furcellaria. Planta (Berl.), 66 : 377-380.

SCHNEIDER M.J. et VOTH P.D., 1965. - Phytokinins in Marchantia polymorpha. Plant Physiol., suppl. LXXVIII : 40.

SCHRAM E., DUSTIN J.P, MOORES S. et BIGWOOD E.J., 1953. - Application de la chromatographie sur échangeurs d'ions à l'étude de la composition des aliments en acides aminés. Analytica chim. Acta, Pays-Bas, 9 : 149-162.

SCHREIBER E., 1935. - Über Kultur und Geschlechtsbestimmung von Dictyota dichotoma. Planta (Berl.), 12 : 266-275.

SCHREIBER K. et SEMBDNER G., 1966. - Gibberellin. X. Isolierung von O(2)-Acetyl-Gibberellinsäure als Stoffwechselproduckt von Fusarium moniliforme sheld. Phytochem., 5 : 1221-1225.

SCHRÖDER I., 1970. - Morphologische Veränderungen bei der einzilligen Alge Poteriochromonas stipitata durch Einwirkung von 2.4-Dichlorophenoxyessigsäure. Z. allg. Mikrobiol., Dtsch., 10, 4 : 299-302.

SCHRÖDER I., DUMMLER W., JUNG K. et MUCKE D., 1967. - Wirkung von 2.4-Dichlorophenoxyessigsäure aud die Nukleinsäure-Biosynthese der einzelligen Alge Poteriochromonas stipitata. Acta biol. med. german., 18 : 125.

SCHUSSNIG B., 1953. - Handbuch der Protophytenkunde. Gustav Fischer, Jena, 6 : 636 pp.

SCOTT T.K., CASE D.B. et JACOBS W.P., 1967. - Auxin gibberellin interaction in apical dominance. Plant. Physiol., 42, 10 : 1329-1333.

SCHREIBER K., SCHNEIDER G., SEMBONER G. et FOCKE I., 1966. - Gibberellin. X. Isolierung von O(2)-acetyl-gibberellinsäure als stoffwechselproduckt von Fusarium moniliforme Sheld. Phytochemistry, 5 : 1221-1225.

SHUKLA A.C., 1967. - Effect of algal hormones on stomatal and epidermal development in rice leaves. Hydrobiologia, 30, 2 : 221-224.

SCHUKLA A.C. et GUPTA A.B., 1967. - Influence of algal growth promoting substances on growth, yield and protein contents of rice plants. Nature, 213, 5077 : 744.

SKINNER C.G., TALBERT F.D. et SHIVE W., 1958. - Effect of 6 (substitued) purines and gibberellin on the rate of seed germination. Plant Physiol., 33 : 190-194.

SKOOG F. et ARMSTRONG D.J., 1970. - Cytokinins. Ann. Rev. Plant Physiol., U.S.A., 21 : 359-384.

SMITH G.M., 1951. - The sexual substances of algae. Proc. of a symposium, Wisconsin : Plant growth substances. Skoog F. Edit. : 315-328.

SPENCER T., 1968. - Effect of kinetin on the phosphatase enzymes of Acetabularia. Nature, 217, 5123 : 62-64.

STAHL E., 1962. - Dünnschicht Chromatographie. Ein Laboratorium-Handbuch. Springer Verlag : 364 pp.

STEINECKE F., 1925. - Zur Polarität von Bryopsis. Bot. Arch., 12 : 97-102.

STOLAREK J., 1968 a. - The effect of IAA on bioelectric potentials and resistance in giant plant cells. Stud. biophys. Allem., 6, 3 : 187-192.

STOLARECK J., 1968 b. - Ionic relations and electrophysiology of single cells of Characeae. II. - The effect of IAA on sodium and potassium influx in cells of Nitella translucens. Acta. Soc. Botanicorum Polen, 37, 2 : 337-345.

STOWE B.B., 1955. - The production of indoleacetic acid by bacteria. Biochem. J., 9 : 61.

STOWE B.B., 1959. - Occurence and metabolism of simple indoles in plants. Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe, 17 : 248-252.

STOWE B.B. et THIMANN K.V., 1954. - The paper chromatography of indole compounds and some indole containing auxins of plant tissues. Arch. Biochem. Biophys., 51 : 499-516.

STOWE B.B. et YAMAKI T., 1959. - Gibberellins : stimulants of plant growth. Science, 129 : 807-816.

STREET H.E., GRIFFITH D.J., THRESCHER C.L. et OWENS M., 1958. - Ethanol as a carbon source for the growth of Chlorella vulgaris. Nature, 182 : 1360-1361.

SUNESON S., 1942. - Uber wachstumfördernde Wirkung von Algenextrakten auf Ulva und Enteromorpha. K. Fysiogr. Sällsk. Förhandl., Lund : 12.

SUNESON S., 1943. - Weitere Untersuchungen über wachstumfördernde Wirkung von Algenextrakten auf Ulva lactuca. Kungl. Fysiogr. Sällsk. Förhandl., Lund, 13 : 20.

SUPNIEWSKI J., KRUPINSKA J., SUPNIEWSKA H. et WACLAW B., 1957. - The biological properties of kinetin and thiokinetin. Bull. Acad. Polon. Sc., 5, 1 : 19-24.

SUPNIEWSKI J. et MARCZYNSKI T., 1957. - The biological properties of kinetin. The effect of kinetin on Protozoa and on fertilised eggs of Tubifex tubifex. Bull. Acad. Polon. Sc., 5, 12 : 437-442.

SUPRON N., 1965. - En russe : Effet stimulant des extraits de champignons vis à vis de l'algue Scenedesmus obliquus. Nauch. Dokl. Vyssh. Shk. Biol. Nauki. S.S.S.R., 4 : 189-192.

SWEETS W.A. et WEDDING R.T., 1964. - The effect of dinitrophenol and other inhibitors on the uptake and metabolism of 2.4-dichlorophenoxyacetic acid by Chlorella. New Phytol., 63, 1 : 55-72.

TAMARI K., OGASAWARA N., KAJI J. et IMAI S., 1959. - Quantitative measurement of gibberellin by use of the alga (Nitella species). Bull. Fac. Agr. Niigata Univ., 11 : 85-90.

TAMIYA H., 1951. - Some theoretical notes on the kinetics of algal growth. Bot. Mag., Tokyo, 64 : 167-173.

TAMIYA H., SASA T., NIHEI T. et ISHIBASHI S., 1955. - Effect of variation of day-length, day and night, temperatures and intensity of daylight upon the growth of Chlorella. Scientific Basis. Tucson, Arizona.

TAMIYA H. et MORIMURA Y., 1960. - Effects of some substances upon the course of events occuring in the life cycle of Chlorella. J. Gen. Appl. Microb., 6, 2 : 136-137.

TAMURA S., 1969. - En japonais : Les gibbérellines. Chimie, biochimie et physiologie. Tamura Saburo Edit. Japon : 452 pp.

TAMURA S., TAKAHASHI N., YOKOTA T., MUROFUSHI N. et OGAWA Y., 1968. - Isolation of water-soluble gibberellins from immature seeds of Pharbitis nil. Planta (Berl.), 78 : 208-212.

TANDLER C.J., 1962 a. - A naturally occuring crystalline indolyl derivative in Acetabularia. Naturwissenschaften, 40 : 213-214.

TANDLER C.J., 1962 b. - Bound indoles in Acetabularia. Planta (Berl.), 59, 91, 407 : 91-107.

TARIS B. et CLEMENCET Y., 1970. - Extraction et étude des substances de croissance produites en culture pure par Nectria galligena Bres., agent du chancre européen des arbres fruitiers. C.R. Acad. Sci., Paris, 271, 1 : 78-81.

TAUBAEV T.T., GALKINA N.V. et VASIGOV T., 1970. - En russe : Quelques données sur la stimulation de la croissance des graines et des plants de cotonnier et de riz par Chlorella vulgaris, souche 157. Uzbek. biol. Zh., S.S.S.R., 14, 4 : 60-61.

TAUTS M.I., 1968. - En russe : Les modalités d'apparition des substances inhibitrices de croissance dans les cultures de Chlorella sp. K et action sur ce processus de la microflore bactérienne accompagnatrice. Fiziol. Rasten., S.S.S.R., 15, 4 : 665-673.

TAUTS M.I. et SEMENENKO V.E., 1971. - En russe : Extraction et identification des substances physiologiquement actives de nature indolique dans les métabolites extracellulaires de la Chlorelle. Dokl. Akad. Nank. S.S.S.R., 198, 4 : 970-973.

TAUTS M.I., SELINANOVA T.M. et SEMENENKO V.E., 1971. - En russe : Contribution au déchiffrage de l'effet d'autostimulation de la croissance chez Chlorella. Fiziol. Rasten., S.S.S.R., 18, 1 : 69-77.

TEGLEY J.R., WITHAM F.H. et KRASNUK M., 1971. - Chromatographic analysis of a cytokinin from tissue cultures of crown-gall. Plant Physiol., 47, 4 : 581-585.

TEPASKE E.R. et FRANK D.R., 1968. - Influence of gibberellic acid and indole-3-acetic acid on the morphology and population dynamics of Eudorina elegans. Proc. Iowa, Acad. Sc., 74 : 36-44.

TERAMOTO K. et KINOSHITA S., 1960. - On the effects of amino acids and purines on the growth of Porphyra. Bull. Jap. Soc. Phyc., 8, 3 : 90-95.

THIMANN K.V., 1934. - Studies on the growth hormone of plants. IV. - The distribution of the growth substances in plants. J. Gen. Physiol., 18 : 23-34.

THIMANN K.V., SKOOG F. et BYER A.C., 1942. - The extraction of auxin from plant tissues. II. - Amer. J. Bot., 29 : 598-606.

THIMANN K.V. et BETH K., 1959. - Action of auxins on Acetabularia and the effect of enucleation. Nature, 183 : 946-948.

THIMANN K.V. et MAHADEVAN S., 1964. - Nitrilase. I. Occurence, preparation and general properties of the enzyme. Arch. Biochem., 105 : 133-141.

THOMAS E.A., 1963. - Versuche über die Wachstumsforderung von Cladophora und Rhizoclonium Kulturen durch Bakterienstoffe. Ber. Schweiz. bot. Gesellsch., 73 : 504-518.

TSUBO Y., 1961. - Chemotaxis and sexual behavior in Chlamydomonas. J. Protoz., 8 : 114-121.

TSUKIDATE J., 1970. - Some notes on Grinnellia americana in culture. Bull. jap. soc. sc. fish., Jap., 36, 11 : 1109-1114.

THURMAN D.A. et STREET H.E., 1960. - The auxin activity extractable from excised tomato roots by cold 80 per cent methanol. J. Exp. Bot., 32 : 188.

VAN DER WEIJ H.G., 1933 a. - On the occurence of growth substance in marine algae. Proc. Acad. Sc. Amsterdam, 36 : 759-760.

VAN DER WEIJ H.G., 1933 b. - Ueber das Vorkommen von Wuchsstoff bei Meeresalgen. Public. stazione zool. Napoli, XII, 2 : 172-179.

VAN OVERBEEK J., 1940 a.-Auxins in marine algae. Plant Physiol., 15 : 291.

VAN OVERBEEK J., 1940 b. - Auxins in marine plants. II. Bot. Gaz., 101 : 940-947.

VAN OVERBEEK J. et DOWDING L., 1961. - Inhibition of gibberellin action by auxin. Dans : Plant growth regulation. Iowa state Univers. press, U.S.A. : 657-663.

VENDT V.P. et DROKOVA I.G., 1962. - En ukrainien : L'acide ribonucléique en tant que stimulateur de croissance des algues. Ukrain. Bot. Zh., 19, 6 : 60-63.

VRANA D. et FENCL Z., 1964. - Relationship of sulfur metabolism and division of Chlorella pyrenoidosa cells. Folia. microbiol., Tchécoslov., 9, 3 : 156-163.

WEBER W., 1958. - Zur Polarität von Vaucheria. Z. Botan. : 161-198.

WEDDING R.T. et BLACK M.K., 1961. - Uncoupling of phosphorylation in Chlorella by 2.4-dichlorophenoxyacetic acid. Plant and Soil, XIV, 3 : 242-247.

WEDDING R.T. et BLACKMAN G.E., 1961. - The uptake of growth substances. III. - Influence of indoleacetic acid and other auxins on the uptake of 2.4-dichlorophenoxyacetic acid by Chlorella. J. Exp. bot., 12, 36 : 378-389.

WEDDING R.T. et ERICKSON L.C., 1957. - The role of pH in the permeability of Chlorella to 2.4-D. Plant Physiol., 32 : 503-512.

WEDDING R.T., ERICKSON L.C. et BLACK M.K., 1959. - Influence of 2.4-dichlorophenoxyacetic acid on solute uptake by Chlorella. Plant Physiol., 34, 1 : 3-10.

WHIGHTMAN F., 1964. - Pathways of tryptophan metabolism in tomato plants. Dans : Régulateurs naturels de la croissance végétale. C.N.R.S., Paris.

WILBOIS COLEMAN A., 1962. - Sexuality. Dans : Physiology and Biochemistry of algae. LEWIN Edit. Academic Press : 711-729.

WILLIAMS L.G., 1949. - Growth-regulating substances in Laminaria agardhii. Science, 110 : 169.

WILLIAMS L.G., 1952. - Effects of indoleacetic acid on growth in Codium. Amer. J. Bot., 39 : 107-109.

WINTER A., 1966. - A hypothetical route for the biogenesis of IAA. Planta (Berl.), 71 : 229.

WOOD T., 1955. - A reagent for the detection of chloride and of certain purines and pyrimidines on paper chromatograms. Nature, 176 : 175-176.

WOOD H.N., BRAUN A.C., BRANDES H. et KENDE K., 1969. - Studies on the distribution and properties of a new class of cell division - promoting substances from higher plant species. Proc. Nation. Acad. Sc., 62 : 349-356.

YAMANE H., YAMAGUCHI I., MUROFUSHI N. et TAKAHASHI N., 1971. - Isolation and structure of gibberellin A_{35} and its glucoside from immature seed of Cytisus scoparius. Agr. Biol. Chem., 35 : 1144-1146.

YIN H.C., 1937. - Effect of auxin on Chlorella vulgaris. Proc. Nation. Acad. Sc., 23 : 174.

YOKOTA T., TAKAHASHI N., MUROFUSHI N. et TAMURA S., 1969 a. - Isolation of gibberellins A_{26} and A_{27} and their glucosides from immature seeds of Pharbitis nil. Planta (Berl.), 87 : 180-184.

YOKOTA T., TAKAHASHI N., MUROFUSHI N. et TAMURA S., 1969 b. - Structures of new gibberellin glucosides in immature seeds of Pharbitis nil. Tetrahedron Lett., 25 : 2081-2084.

YOKOTA T., MUROFUSHI N. et TAKAHASHI N., 1970. - Structure of new gibberellin glucoside in immature seeds Pharbitis nil. Tetrahedron Lett., 18 : 1489-1491.

YOKOTA T., MUROFUSHI N., TAKAHASHI N. et TAMURA S., 1971 a. - Gibberellins in immature seeds Pharbitis nil. Part II. Isolation and structure of novel gibberellins, gibberellins A_{26} and A_{27}. Agr. Biol. Chem., 35 : 573-582.

YOKOTA T., MUROFUSHI N., TAKAHASHI N. et TAMURA S., 1971 b. - Gibberellins in immature seeds of Pharbitis nil. Part III. Isolation and structures of gibberellin glucosides. Agr. Biol. Chem., 35, 4 : 583-595.

YOUNIS M.E., FODA H.A. et EL-GHOBASHY A.S., 1971. - Experimental studies on plant metabolism. II. - Effect of gibberellic acid on the carbohydrate, nitrogen and oil content of Ricinus seeds during germination. Physiol. Plant., Danem., 24, 3 : 411-418.

ZARROUK C., 1966. - Contribution à l'étude d'une Cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de Spirulina maxima (Setch et Gardner) Geitler. Th. Doct. Sc. appl., Paris.

ZENK M.H. et SCHERF H., 1964. - Verbreitung der D. Tryptophan - Konjugations - Mechanismen im Pflanzenreich. Planta (Berl.), 62, 4 : 350-354.

ZETSCHE K., 1963. - Der Einfluss von Kinetin und Gibberellin auf die Morphogenese Kernhaltiger und Kernloser Acetabularien. Plant, Arch. Wiss. Bot., 59, 6 : 624-634.

ZGUROVSKAJA L.N., 1969. - En russe : Influence de la substance de croissance obtenue à partir du pétrole sur l'intensité de la photosynthèse et le taux de division cellulaire de Choetoceros curvisetus C.L. Girodrobiol. Zh. Ukrain. S.S.R., 5, 1 : 55-59.

ZOBELL C.E., 1946. - Marine microbiology. Waltham Mass., U.S.A. Publ. Chron. Bot. Comp.

INDEX DES ESPECES

I. - ALGUES

Acetabulaires..... 30
Acetabularia..... 18, 225, 229, 251
Acetabularia sp..... 245
Acetabularia calyculus..... 31, 218, 238
Acetabularia cliftonii..... 31, 218, 238
Acetabularia crenulata..... 31, 46, 48, 218, 237, 238, 249, 257
Acetabularia mediterranea..... 21, 31, 41, 44, 46, 47, 49, 218, 228, 235, 237, 243, 245, 247, 249, 251
Acetabularia wettsteinii..... 31, 218, 238
Acicularis schenekii..... 31, 218
Actinastrum hantzchii..... 42, 241
Agrum sp..... 27
Alaria valida..... 27
Anaboena sp..... 43, 244
Anaboena circinalis..... 40, 42, 236, 238, 241
Anaboena cylindrica..... 20, 40, 225, 235, 236
Anaboena planktonica..... 40, 42, 236, 238, 241
Anaboena variabilis..... 19, 40, 41, 44, 236, 238, 241
Anacystis nidulans..... 40,41, 48, 235, 236, 243, 255
Ankistrodesmus acicularis..... 42, 241
Ankistrodesmus falcatus..... 40,41, 48, 237, 241, 255
Ankistrodesmus fusiformis..... 42, 241
Aphanizomenon flos-aquae..... 42, 236, 241
Ascophyllum..... 19, 22, 258
Ascophyllum nodosum..... 22, 30, 45, 49, 212, 214, 217, 225, 235, 236, 243, 247
Asparagopsis armata..... 215
Asterionella gracillima..... 41, 242

Batophora oerstedi..... 20, 31, 44, 218, 235, 237, 243, 247
Biddulphia..... 27
Blidingia marginata..... 44, 45
Blidingia minima..... 44, 45
Botryocladia botryoïdes..... 33, 52, 127, 128, 129, 130, 212, 213, 217, 224, 228, 229, 264

Bryopsis..... 21
Bryopsis muscosa..... 25, 172, 173, 189, 237, 256
Bryopsis plumosa..... 47, 249, 250

Callithamnion granulatum..... 215
Calmagol..... 132, 134
Calothrix antarctica..... 19
Caulerpes..... 189
Caulerpa..... 225, 251
Caulerpa clavifera..... 21
Caulerpa olivieri..... 44, 234, 237
Caulerpa prolifera..... 20, 44, 138, 139, 140, 172, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 218, 219, 220, 229, 230, 237, 244, 247, 248, 249, 250, 252
Ceramium ciliatum..... 256
Ceramium rubrum..... 212, 217, 225
Ceratium hirundinella..... 42, 242
Chaetoceros sp..... 43, 238, 239, 244, 254
Chaetoceros affinis..... 40, 42, 238, 242, 254
Chaetoceros convolutus..... 29, 238
Chaetoceros curvisetus..... 49
Chaetoceros debilis..... 29, 238
Chaetoceros decipiens..... 29, 238
Chaetomorpha linum..... 49, 247
Chara..... 35
Chara coronata..... 34, 221
Chara fusca..... 238
Chara foetida.....32, 212, 226, 235, 253
Chara fragilis..... 255
Chara globulis..... 48, 257
Chara hispida..... 32, 212, 226, 238, 253
Chara miniata..... 238
Characées..... 22, 46, 212, 229
Chlamydomonas moewusii..... 42, 47, 225, 237, 241, 244
Chlamydomonas reinhardi..... 34, 244
Chlorelles..... 242, 260, 267
Chlorella..... 38, 224

Chlorella sp..... 39, 41, 42, 48, 49, 212, 218, 235, 237, 241, 243, 247

Chlorella de Sorokin..... 41, 237, 241

Chlorella ellipsoidea..... 48, 237, 255

Chlorella fusca..... 237, 241, 253

Chlorella luteoviridis..... 48, 255

Chlorella miniata..... 38, 237

Chlorella pyrenoidosa..... 19, 20, 29, 30, 38, 39, 41, 42, 48, 49, 212, 217, 218, 225, 235, 237, 241, 243, 245, 247, 255, 256, 257

Chlorella variegata..... 48, 255

Chlorella viscosa..... 18, 19, 225

Chlorella vulgaris..... 24, 25, 26, 38, 39, 41, 42, 48, 49, 224, 225, 235, 237, 241, 243, 247, 255

Chlorella xanthella..... 48, 255

Chloridella minuta..... 48, 255

Chlorococcum sp..... 40, 41, 42, 237

Chlorococcum macrostigmatum..... 48, 255

Chlorogloea fritschii..... 40, 45, 235, 236, 243

Chorda phyllum..... 225

Cladophora..... 19

Cladophora glaucescens..... 225

Cladophora lanosa..... 248

Cladophora loetevirens..... 104, 105, 106, 121, 213, 217, 218, 223, 224

Cladophora pellucida..... 135, 161

Cladophora sericea..... 33, 212, 218, 226

Cladophora utricularis..... 213, 217

Cladophora utriculosa..... 106, 107, 121, 224

Cladostephus verticillatus..... 121

Coccomyxa dispar..... 42, 237

Coccomyxa simplex..... 18,19, 40, 41, 49, 225, 237, 241, 243, 247

Codium..... 21, 179

Codium decorticatum..... 28, 44, 224, 235, 237

Codium dichotomum..... 44, 237, 238

Codium fragile..... 108, 109, 121, 140, 141, 142, 175, 180, 213, 217, 218, 219, 220, 223, 230, 235, 237

Codium tomentosum..... 24, 238

Coelastrum microporum..... 42, 45, 48, 237, 241, 255
Conchocelis..... 20, 21, 45, 247
Corallina officinalis..... 123
Coscinodiscus concinus..... 29
Cosmarium..... 225
Costeria costata..... 27
Cyanophycées d'eau douce..... 18, 19, 225
Cylindrospermum michailovskoënse..... 19
Cymopolia barbata..... 20, 31, 218
Cystoclonium purpurescens..... 225
Cystococcus cohoerens..... 40, 237
Cystophyllum germinatum..... 27
Cystoseira..... 87
Cystoseira balearica..... 214, 216
Cystoseira barbata..... 24, 214, 215, 216, 238
Cystoseira crinita..... 130, 214, 216
Cystoseira discors..... 154, 157, 159, 161, 163, 214, 216, 222, 223
Cystoseira fimbriata..... 214, 215, 216
Cystoseira mediterranea..... 215
Cystoseira stricta..... 111, 112, 113, 114, 115, 116, 145, 146, 164, 165, 166, 167, 212, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 223, 226, 227, 230, 235, 238, 253, 260, 264

Dasycladus..... 225
Dasycladus clavoeformis..... 31, 218
Desmarestia aculeata..... 26, 27
Desmarestia munda..... 27
Diatomées..... 19, 26, 29, 36, 41, 53, 212, 224, 254
Diatomées marines..... 18, 223
Dictyopteris membranacea..... 116, 117, 118, 182, 183, 212, 213, 217, 235, 236
Dictyota dichotoma..... 18, 45, 118, 236, 257
Dictyotales..... 204
Dilophus fasciola..... 118, 121, 182, 236, 238
Dilophus fasciola variété repens..... 204, 205, 253
Dilophus spiralis..... 118, 119, 212, 213, 224, 238
Ditylum brightwellii..... 43, 239, 244

Draparnaldia plumosa..... 45, 242

Dunaliella euchlora..... 40, 41, 241

Dunaliella salina..... 40, 41, 237, 241, 242

Ecklonia..... 35, 222, 244

Ecklonia radiata..... 35, 37, 45, 49, 219, 221, 223, 236

Ectocarpus fasciculatus..... 46, 236, 249, 250

Ectocarpus siliculosus..... 225

Egregia menziesii..... 27

Enteromorphes..... 21

Enteromorpha..... 21, 35, 46, 87

Enteromorpha sp..... 238, 254

Enteromorpha clathrata..... 44, 237, 238, 249, 254, 256

Enteromorpha compressa..... 33, 44, 45, 46, 108, 110, 179, 180, 212, 223, 224, 226, 229, 230, 235, 237, 249, 256

Enteromorpha intestinalis..... 179, 215, 235, 254

Enteromorpha linza..... 20, 44, 45, 153, 154, 155, 156, 158, 161, 163, 215, 222, 223, 225, 238, 241, 254

Enteromorpha prolifera..... 33, 35, 45, 142, 143, 144, 145, 212, 218, 219, 220, 221, 241, 244

Erythrotrichia ciliaris..... 123

Eudorina elegans..... 40, 42, 241

Euglena sp..... 42, 47, 242, 253

Euglena gracilis..... 40, 41, 42, 44, 48, 49, 239, 242, 243, 245, 247, 255, 256

Falkenbergia rufolonosa..... 215

Fischerella mucicola..... 19

Fragilaria capucina..... 41, 242

Fucacées..... 22

Fucus..... 19, 22, 258, 260

Fucus evanescens..... 26, 27, 45, 49, 235, 236, 238, 243, 247

Fucus serratus..... 22, 225, 238

Fucus spiralis..... 34, 219, 221

Fucus vesiculosus..... 19, 21, 22, 25, 31, 32, 33, 45, 46, 47, 48, 49, 212, 213, 217, 218, 219, 221, 222, 224, 225, 227, 228, 235, 236, 238, 247, 249, 254

Furcellaria fastigiata..... 19, 33, 212, 217, 218, 225

Gelidium latifolium..... 135
Gonyaulax polyedra..... 34
Gracilaria acicularis..... 24
Gracilaria corticata..... 48, 256
Gracilaria verucosa..... 46, 239, 244
Guinardia flaccida..... 29
Gymnodinium breve..... 42, 242, 244
Gymnodinium splendens..... 36, 43, 44, 48, 223, 242, 244, 256
Gymnogongrus..... 87
Gymnogongrus norvegicus..... 135, 158, 160, 161, 162, 163, 222, 223

Halopteris scoparia..... 118, 120, 121, 182, 184, 185, 213, 217, 223, 235, 236
Halosphoera sp..... 239
Hedophyllum sessile..... 27
Hormotila blennista..... 224
Hypnea musciformis..... 35, 36, 46, 219, 221, 223, 226, 239, 244, 246

Iridea heterocarpa..... 27

Laminaires..... 268
Laminaria sp..... 27, 28, 238
Laminaria agardhii..... 28, 45, 224, 227, 238, 253
Laminaria cloustonii..... 29, 30, 212, 217, 238
Laminaria digitata..... 21, 30, 37, 212, 223, 238
Laminaria japonica..... 45, 236, 238
Laminaria ochotensis..... 214
Laurencia obtusa..... 33, 130, 131, 132, 135, 212, 215, 223, 224
Laurencia papillosa..... 215
Laurencia pinnatifida..... 215
Laurencia undulata..... 215
Leptocylindrus danicus..... 29

Lichnothamus barbatus..... 255

Lithophyllum tortuosum..... 161, 172, 184

Lithosiphon pusillus..... 236

Lithothamnium calcareum..... 132, 133, 147, 149, 212, 213, 220, 223, 224, 226, 230, 267

Macrocystis..... 253

Macrocystis pyrifera..... 25, 26, 34, 224, 227

Maerl..... 134

Melosira..... 27

Melosira sp..... 235, 239

Melosira granulata..... 41, 239

Melosira sulcata..... 42, 242

Mesotoenium caldariorum..... 40, 41, 49, 234, 237, 243, 247

Microcystis aeruginosa..... 42, 236, 241

Monostroma balticum..... 48, 256

Nannochloris oculata..... 43, 44, 48, 237, 244

Navicula sp..... 43, 239, 244

Nemalion helminthoïdes..... 135, 188

Nemalion multifidum..... 33, 212, 217

Neogoniolithon notarisii..... 172

Neomeris annulata..... 20

Nereocystis..... 227

Nitella sp..... 237, 255

Nitella flexilis..... 45, 47, 48, 49, 237, 243, 247, 249, 251, 255

Nitella syncarpa..... 255

Nitella translucens..... 48, 255

Nitzschia closterium..... 43, 239, 244

Nitzschia delicatissima..... 43, 239, 244

Nitzschia palea..... 225

Nitzschia seriata..... 29

Nostoc sp..... 45, 236

Nostoc muscorum..... 45, 225, 236, 243

Nostoc punctiforme..... 45, 46, 236

Ochromonas malhamensis..... 29, 30, 42, 212, 217, 218, 235, 242

Oedogonium cardiacum..... 35, 44, 48, 219, 221, 225, 238, 244, 247

Oedogonium geniculatum..... 225

Oocystis sp..... 40, 41, 49, 238, 241, 243, 247

Oocystis noegelii..... 18, 19, 40, 225, 238

Oscillatoria sp..... 20, 29, 30, 212, 217, 218

Oscillatoria animalis..... 48, 256

Padina pavonia..... 104, 121, 122, 123, 212, 217, 223, 224, 226

Pandorina morum..... 225

Pediastrum boryanum..... 42, 241

Pediastrum duplex..... 42, 225, 241

Pelvetia canaliculata..... 214

Peridinium sp..... 43, 239, 242, 244

Petalonia fascia..... 123, 124, 125, 147, 148, 212, 217, 218, 219, 223

Petroglossum nicaeense..... 127, 147, 150, 151, 161, 184, 186, 189, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 206, 207, 208, 209, 218, 219, 220, 230, 239, 244, 248, 249, 251, 257, 258, 268

Peyssonnelia squamata..... 116

Phaeodactylum tricornutum..... 36, 43, 44, 48, 223, 239, 244, 256

Phormidium..... 225

Phormidium autumnale..... 19

Phormidium corium..... 19

Phormidium faveolarum..... 19, 35, 40,41, 221, 236, 243

Phormidium favosum..... 48, 256

Phormidium uncinatum..... 19, 225

Phyllophora heredia..... 215

Phyllophora nervosa..... 215

Phytoplancton..... 29, 30, 34, 36, 212

Platymonas..... 34

Pleurophycus gardneri..... 27

Plocamium vulgare..... 127, 147, 161, 184

Polytoma uvella..... 42, 241

Porphyra..... 35, 186

Porphyra sp..... 47, 245, 253

Porphyra leucosticta..... 151, 152, 186, 187, 188, 189, 218, 219, 220, 229, 230, 239, 244, 248, 249, 256, 267

Porphyra tenera..... 20, 34, 45, 46, 48, 221, 239, 242, 244, 245, 247, 255, 267

Poteriomonas stipitata..... 49, 246, 247, 257

Protococcus viridis..... 40, 41, 42, 238

Prototheca portoricensis..... 41, 238

Pterocladia capillacea..... 21, 45, 46, 135, 136, 212, 215, 218, 223, 235, 239, 249, 252, 257

Pylaiella litoralis..... 33, 46, 212, 236, 249, 250

Rhizoclonium..... 19

Rhizoclonium hieroglyphicum..... 44, 45, 49, 238, 241, 243, 247

Rhizosolenia hebetata..... 29

Rhizosolenia styliformis..... 29

Rhodothamniella codii..... 108

Rhodymenia..... 227

Rhodymenia sp..... 27

Rhodymenia palmata..... 214

Rissoella verruculosa..... 33, 135, 137, 188, 212, 213, 215, 224, 248

Sargassum sp..... 48, 256

Scenedesmus..... 225

Scenedesmus sp..... 238

Scenedesmus acuminatus..... 41, 238, 241

Scenedesmus acutiformis..... 41, 238, 241

Scenedesmus bijuga..... 42, 238, 241

Scenedesmus dimorphus..... 41, 238, 241

Scenedesmus flavescens..... 18, 19, 40, 225, 238

Scenedesmus obliquus..... 19, 40, 42, 238, 241, 243, 247

Scenedesmus quadricauda..... 19, 41, 42, 225, 238, 242

Scenedesmus quadrispina..... 42, 238

Scinaïa furcellata..... 123, 217, 218

Scytonema hofmanni..... 19

Scytosiphon lomentaria..... 125, 126, 127, 212, 217, 223, 224

Skeletonema sp..... 239
Skeletonema costatum..... 40, 43, 239, 244
Spirogyra longata..... 46, 242, 245
Spirulines..... 267
Staurastrum tretocerum..... 242
Stephanoptera gracilis..... 40, 42, 242
Stichococcus bacillaris..... 242
Stigeoclonium..... 47
Stigeoclonium facklandicum..... 47, 254
Stigeoclonium variabile..... 42, 238
Stratonostoc linckia..... 19
Synedra ulna..... 41, 242

Taonia atomaria..... 118
Tetraselmis sp..... 34, 219, 221, 244
Tetraspora lubrica..... 225
Thalassiosira gravida..... 29, 43, 239, 244, 254
Thalassiothrix longissima..... 29
Thalassiothrix nitzschioïdes..... 29
Tolypothrix tenuis..... 40, 41, 236, 243
Trichodesmum erythraneum..... 42, 241

Udotea petiolata..... 116
Ulothrix subtilissima..... 44, 45, 238, 242
Ulva..... 179, 182
Ulva dangeardii..... 44, 45
Ulva fasciata..... 48, 256
Ulva lactuca..... 20, 26, 44, 45, 46, 47, 123, 179, 212, 215, 225, 235, 238, 242, 248, 249, 250, 253, 257, 258
Ulva rigida..... 44, 179, 181, 186, 189, 215, 238, 247, 248, 249, 256
Ulvacées..... 18

Valonia..... 224, 226
Valonia macrophysa..... 24, 130, 228
Valonia utricularis..... 24, 127, 135, 226, 228

Vaucheria..... 18, 20, 47

Vaucheria armata..... 20

Vaucheria dichotoma..... 253

Vaucheria geminata..... 20, 47, 254

Vaucheria sessilis..... 20, 44, 45, 46, 47, 239, 247, 253, 254

Vaucheria synandra..... 47, 254

Vaucheria woroniniana.....253

Volvox aureus..... 225

Volvox carteri..... 225

II. - AUTRES VEGETAUX

1) Bactéries

Azotobacter chroococcum..... 19

Bactéries..... 19, 223, 261

Bactéries marines..... 53, 213

Beijerinckia indica..... 19

Corynebacterium fascians..... 36

Staphyloccocus aureus..... 18

2) Champignons

Champignons..... 19, 223, 264, 265

Levure de bière..... 35

Phytophtora cactarum..... 18

3) Fougère

Alsophyla cooperi..... 34

4) Gymnosperme

Juniperus chinensis..... 34

5) Angiospermes

Agrostemma..... 32

Avoine..... 20, 24, 25, 26, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 70, 71, 85, 86, 88, 91, 92, 138, 139, 141, 143, 146, 149, 150, 152, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 223, 224

Blé..... 33, 86

Cannabis sativa..... 257

Céréales..... 24, 227

Cymodocea nodosa..... 154

Endive..... 222

Laitue..... 82, 85, 138, 139, 143, 145, 146, 149, 151, 152, 153, 166, 167, 168, 169, 224

Lemna minor..... 19

Lupinus luteus..... 36

Maïs nain..... 34, 35, 84, 138, 141, 144, 148, 150, 222, 224

Orge..... 36

Phaseolus vulgaris..... 19

Pisum sativum..... 19, 22, 33, 34, 36, 253

Posidonia oceanica..... 154

Radis..... 36, 37

Riz..... 19, 35

Saule..... 21

Tabac..... 88, 89, 90, 92, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 222

Topinambour..... 18, 225

Triticum vulgare..... 36

Zea mays..... 36